COUNTWAY LIBRARY
HC 52CA F

S. SELIGMANN

MIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGS-METHODEN DES AUGES

2. AUFLAGE

BIBLIOTHECA · BOSTONIENSIS · MEDICINAE
SERVAT · ET · DOCET
FVNDATA MDCCCLXXI
EX DONO

Die mikroskopischen Untersuchungsmethoden des Auges.

Von

Dr. S. Seligmann,
Augenarzt in Hamburg.

Zweite, gänzlich umgearbeitete und erweiterte Auflage.

BOSTON MEDICAL
JUL 25 1911
LIBRARY.

BERLIN 1911
VERLAG VON S. KARGER
KARLSTRASSE 15.

964 3/3 pk

Alle Rechte vorbehalten.

Gedruckt bei Imberg & Lefson G. m. b. H. in Berlin SW. 68.

Vorwort zur zweiten Auflage.

Der schon vor mehreren Jahren an mich von der Verlagsbuchhandlung gerichteten Aufforderung, eine neue Auflage der „mikroskopischen Untersuchungsmethoden des Auges“ zu bearbeiten, konnte ich leider erst jetzt Folge leisten, weil anderweitige umfangreiche Veröffentlichungen mich zu sehr in Anspruch nahmen. Die freundliche und ermunternde Aufnahme, die die „Untersuchungsmethoden“ bei ihrem ersten Erscheinen von seiten der Kritik erfahren haben, zeigte mir, dass der eingeschlagene Weg der richtige gewesen ist. Deshalb ist auch in dem Wesen und Aufbau der neuen Auflage keine wesentliche Aenderung vorgenommen worden. Dagegen war es durch den grossen Ausbau der mikroskopischen Technik in den letzten Jahren und durch eine grosse Reihe von Methoden, die aus dem Gebiete der allgemeinen Histologie und Pathologie allmählich auch von den Ophthalmologen als brauchbar und wichtig übernommen worden sind, notwendig geworden, den ganzen Text einer gründlichen Revision zu unterwerfen, Veraltetes auszumerzen und neue geprüfte Erfahrungen aufzunehmen. Eine ganze Reihe von neuen Zusätzen war erforderlich, es seien nur genannt: die vitale Färbung, die Celloidintrockenmethode, die modernen Fettfärbungen, die Glykogenfärbungen, die neuen Färbungen der Achsenzylinder und Neurofibrillen. Die immer mehr zunehmende Wichtigkeit der Untersuchung des Blutes und vor allem die der Bakterien haben es nötig gemacht, auch aus diesem Gebiete das für den Ophthalmologen Wichtigste darzustellen. Vielfachen Wünschen zufolge ist auch die Zahl der vergleichend anatomischen Bemerkungen vermehrt worden.

Eine Erweiterung des Umfangs des Buches war dadurch unvermeidlich. Um dem Anfänger die Auswahl der Methoden zu erleichtern, wurde alles weniger Wichtige durch kleinen Druck kenntlich gemacht. Mit der Kenntnis von wenigen Methoden kommt bei dem heutigen Stande der Wissenschaft nicht einmal

der Anfänger aus; der Spezialist braucht ein grösseres Handwerkzeug, um zu forschen und die Ergebnisse seiner Forschung zum Nutzen der Kranken anzuwenden. Und letzteres ist im Grunde doch das Ziel aller unserer Bemühungen.

Hamburg, August 1910.

S. Seligmann.

Vorwort zur ersten Auflage.

Als Verfasser anfing, sich mit der mikroskopischen Untersuchung des normalen und kranken Auges zu beschäftigen, musste er es sehr entbehren, keinen Leitfaden zur Hand zu haben, der ihn bei der Erforschung dieses so schwer zu behandelnden Organes unterstützen konnte. Einige der vorhandenen Lehrbücher über histologische Technik geben zwar Anweisungen über die Behandlung des Auges, aber dieselben sind so kurz gefasst und so unzureichend, dass derjenige, der eine feine histologische Untersuchung eines Augapfels vornehmen will, sich bald nach anderen Hilfsmitteln umsehen muss, wenn er nicht viel Zeit und Mühe und vieles kostbare Material beim Ausprobieren verlieren will. Verfasser ist deshalb seit Jahren bemüht gewesen, alle die Methoden, die in zahlreichen Werken und Zeitschriften zerstreut über die Untersuchung des Sehorgans angegeben sind, zu sammeln und auf Grund eigener Erfahrungen zu sichten und zusammenzustellen.

Ursprünglich hatte ich keineswegs die Absicht, diese Methoden zu veröffentlichen; ich verdanke die Anregung hierzu meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Silex, dem ich an dieser Stelle für seine Anregung und für das Interesse, dass er an dem Fortschreiten meiner Arbeit genommen hat, meinen verbindlichsten Dank ausspreche.

Das vorliegende Büchlein ist für alle die geschrieben, die bei ihren Arbeiten gerne eine Anweisung für die besten Untersuchungs- und praktischsten Präparationsmethoden haben möchten. Gerade die letzten spielen bei der histologischen Erforschung des Auges eine wichtige Rolle und sind in den gebräuchlichen Lehrbüchern so gut wie gar nicht erwähnt. Besondere Rücksicht ist namentlich auf die Interessen des Ophthalmologen genommen worden.

Die den Augenarzt hauptsächlich interessierenden Fragen der klinischen und experimentellen Pathologie sind so weit als möglich berücksichtigt worden.

Das Büchlein hätte kürzer ausfallen können, wenn Verfasser sich nur auf das beschränkt hätte, was speziell für die Augenuntersuchung nötig ist, und alles dasjenige weggelassen hätte, was auch in anderen Büchern über histologische Technik zu finden ist. Diese Art der Bearbeitung wäre für den Verfasser sicher bequemer gewesen, der Leser hätte aber die Unbequemlichkeit gehabt, bei seinem Arbeiten neben diesem Büchlein noch ein anderes zur Hand nehmen zu müssen. Damit dieses dem Leser erspart bleibe und er alles, was für ihn bei der Bearbeitung des Bulbus zu wissen nötig ist, in einem Buche fände, wurde diese Art der Abfassung gewählt. Die Lehrbücher von Böhm und Oppel, Fol, Frey, Friedländer-Eberth, Israel, Kahlden, Pollack, Ranvier, Rawitz, Schmorl, Stöhr wurden dabei in reichlichem Masse benutzt. Was die speziellen Untersuchungsmethoden des Auges betrifft, so hofft Verfasser, dass dieselben so ausführlich beschrieben sind, dass im allgemeinen kein Missverständnis möglich ist; sollte sich aber dennoch jemand noch genauer über irgend eine Methode orientieren wollen, so findet er in dem jedem Kapitel folgenden Literaturverzeichnis die Stelle, die Verfasser für seine Bearbeitung benutzt hat.

Am Schlusse des Vorworts bleibt mir noch die angenehme Pflicht übrig, Herrn Geheimrat Prof. Hertwig für das freundliche Interesse, das er meinen Arbeiten zuwandte, und Herrn Privatdozenten Dr. Krause für manchen guten Rat, den er mir gegeben hat, meinen aufrichtigsten Dank abzustatten.

Berlin, Juli 1898.

Anatom. Biolog. Institut.

S. Seligmann.

Inhalts-Verzeichnis.

Allgemeiner Teil.

Kap. I. Beschaffen des Materiales 1
Kap. II. Das Töten und Anästhesieren der Tiere 3
Kap. III. Die Herausnahme des Augapfels und Sehnerven 4
Kap. IV. Die Orientierung am Augapfel 6
Kap. V. Die Sektion des Augapfels 10
1. Durchschnitte des Augapfels 10
2. Schichtenpräparation 11
Kap. VI. Die Konservierung des Augapfels 13
1. Trocknen 13
2. Konservierende Flüssigkeiten 14
3. Einschluss in Gelatine 15
4. Trockene Celloidinpräparate 17
Kap. VII. Die Untersuchung frischer anatomisch-pathologischer Präparate 18
Kap. VIII. Die Herstellung des fixierten Präparats 24
I. Fixieren und Härten 24
II. Auswaschen 45
III. Entkalken 46
IV. Nachhärten 48
V. Aufschneiden des gehärteten Bulbus . 49
VI. Einbetten 51
VII. Anfertigung und Behandlung der Schnitte 64
VIII. Färbemethoden 80
IX. Entwässern der Schnitte 94
X. Aufhellen der Schnitte 94
XI. Einschliessen der Schnitte 95
Kap. IX. Darstellung der nervösen Elemente 99
I. Markscheidenfärbung 99
II. Färbung der Achsenzylinder und der Neurofibrillen 103
III. Färbung der Ganglienzellen 107
IV. Färbung der Neuroglia 110
V. Die Golgische Methode 114
VI. Die Ehrlichsche vitale Methylenblaumethode 121

Kap. X. Methoden zur Darstellung besonderer Zell- und Gewebsbestandteile 127
I. Kernteilungsfiguren 127
II. Protoplasmastrukturen 128
III. Darstellung der Zellgrenzen von Epithelien 131
IV. Bindegewebsfasern 131
V. Elastische Fasern 134
VI. Fettsubstanzen 137
VII. Fibrin 140
VIII. Cholestearin 141
IX. Verhornung 142
X. Schleimige Entartung 143
XI. Hyaline und kolloide Entartung . . . 145
XII. Amyloide Entartung 146
XIII. Glykogen 149
XIV. Kalk 152
XV. Blut 153

Spezieller Teil.

Kap. XI. Cornea und Sklera 162
Kap. XII. Uvealtraktus 196
Kap. XIII. Retina 208
Kap. XIV. Nervus opticus 241
Kap. XV. Linse und Zonula Zinnii 245
Kap. XVI. Glaskörper 256
Kap. XVII. Schutz- und Hilfsapparate des Auges 261
I. Konjunktiva 261
II. Augenlider 264
III. Tränenapparat 268
IV. Augenmuskeln 269
V. Ganglion ciliare 271
Kap. XVIII. A. Blutbahnen 272
B. Lymphbahnen 287
Kap. XIX. Nachweis von fremdartigen Bestandteilen im Augeninnern 293
A. Eisen 293
B. Kupfer 297
C. Quecksilber 297
Kap. XX. Ophthalmobakteriologie 299

BOSTON MEDICAL
JUL 25 1911
LIBRARY.

Allgemeiner Teil.

Erstes Kapitel.

Beschaffen des Materiales.

Wie bei allen anderen Organen, so ist es gerade bei den am Auge besonders rasch auftretenden postmortalen Veränderungen unbedingt nötig, nur mit frischem Material zu arbeiten. Leider ist dies mit grossen Schwierigkeiten verknüpft, und ein gesundes **menschliches Auge** in brauchbarem Zustande zu erhalten, wird nicht oft gelingen. Ein später als 2—3, höchstens 5 Stunden post mortem enukleierter Bulbus ist für die Untersuchung nicht mehr brauchbar. Auch die Fälle, wo wegen eines Tumors in der Orbita, einer Verletzung des Augenhöhlendaches oder bei einer Oberkieferresektion der gesunde oder wenigstens teilweise gesunde Augapfel entfernt werden muss und so sogar noch überlebend zur Untersuchung kommen kann, sind recht selten. Diese Schwierigkeiten fallen natürlich beim **Tierauge** vollkommen weg, da wir ja unmittelbar nach der Tötung des Tieres das Auge enukleieren können. Diese Operation am lebenden Tiere auszuführen ist in den allermeisten Fällen eine unnötige Grausamkeit. Einige Untersucher scheinen dasselbe jedoch für die Untersuchung des Sehpurpurs für nötig zu halten.

Viel leichter als ein gesundes menschliches Auge können wir uns pathologisches Material verschaffen. Während alle anderen Organe grösstenteils erst nach dem Tode zur Untersuchung kommen können, ist dieses bei dem Auge nur ein seltener Ausnahmefall. Hier verschafft uns die Operation das meiste und immer lebensfrische Material. Auf diese Weise können wir fast die gesamten äusseren Augenerkrankungen zur mikroskopischen Untersuchung heranziehen, ohne dem Patienten Schaden zuzufügen. In vielen Fällen muss sogar die

Entfernung des erkrankten Gewebes zum Zwecke der Therapie vorgenommen werden. Die **Konjunktivalerkrankungen** können wir studieren, indem wir mit der Pinzette eine Falte der zuvor kokainisierten Bindehaut aufheben und dieselbe vermittelst eines Scherenschlages entfernen. Beim Trachom können wir auch die einzelnen Follikeln ausquetschen, bei der Conjunctivitis membranacea können wir die Croupmembran abziehen; Randphlyctaenen, Knoten beim Frühjahrskatarrh etc. lassen sich exstirpieren. Sogar bei der Conjunctivitis gonorrhoica der Neugeborenen und Erwachsenen können wir ohne Bedenken ein kleines Gewebsstückchen exzidieren. Erkrankungen der **Cornea** machen schon grössere Schwierigkeiten, sind aber doch teilweise der Untersuchung zugänglich. Dermoid- und andere Gschwülste können natürlich ohne weiteres entfernt werden. Bei dickem Pannus trachomatosus wird man die oberflächlichen Schichten abtragen, wenn derselbe über die Hornhautoberfläche prominiert; man erhält dabei sehr brauchbare Präparate. Bei der Fädchenkeratitis reisst man die Fädchen mit der Pinzette los oder schabt dieselben samt dem angrenzenden Hornhautepithel vorsichtig mit einer Lanze ab. Manche Erkrankungen der **Iris** kann man an den durch Iridektomie ausgeschnittenen Irisstückchen studieren; auch die Membrana pupillaris perseverans kann, wenn sie durch ihre Grösse optische Störungen verursacht, durch Ausschneiden zur Untersuchung gewonnen werden. Pathologisch veränderte **Linsen** erhält man durch Extraktion derselben. Stückchen von **Augenmuskeln** kann man bei der Vorlagerung des Schielmuskels ausschneiden; in den meisten Fällen erhält man aber dabei allerdings mehr Sehne als Muskel. Durch die Resektion des **Nervus opticus** bekommen wir oft noch fast gesunde Sehnerven zur Untersuchung. Erkrankungen der **Augenlider,** des **Tarsus,** des **M. levator palpebrae** geben öfters eine Indikation zur Operation und Entfernung eines Teiles des erkrankten Gewebes, ebenso Erkrankungen des **Tränensackes,** der **Tränendrüse,** der **Karunkel.**

In vielen Fällen sind wir gezwungen, den ganzen Bulbus zu entfernen. **Maligne Tumoren** der Retina und der Uvea, epibulbäre bösartige Geschwülste und Geschwülste der Augenhöhlenwände, Tuberkulose der Iris und Aderhaut, Verletzungen des Auges, schleichende Iridocyclitis und Iridochorioiditis, Atrophia und Phthisis bulbi, Ectasia bulbi totalis, Fälle von Glaukom und Hydrophthalmos, Ablatio retinae und Luxatio lentis etc. liefern uns ein reiches Untersuchungsmaterial.

Trotz alledem bleibt aber noch eine grosse Anzahl von Erkrankungen übrig, die wir nicht auf operativem Wege entfernen können, und die uns erst nach dem Tode des betreffenden Kranken zugänglich werden, vorausgesetzt, dass die Angehörigen die Entfernung des erkrankten Bulbus gestatten. Um die Entstellung der Leiche zu verhindern, kann man sich in den Fällen, wo es sich um **Erkrankungen** der **Chorioidea,** der **Retina** oder des **Opticus** handelt, dadurch helfen, dass man nach Freilegen der Schädelbasis die Orbita von innen eröffnet und nur die hintere Bulbushälfte abträgt. Man schlägt zu diesem Zwecke nach erfolgter Gehirnsektion das Orbitaldach vom Foramen opticum an ein, entfernt die Knochensplitter sehr sorgfältig mit einer Pinzette (vergl. Kapitel III.) und präpariert den Augapfel samt Sehnerven aus dem retrobulbären Fettgewebe heraus. Dann hebt man den Bulbus an dem Sehnerven hoch, sticht mit einer spitzen Schere tief in den Äquator des Auges ein und umschneidet dasselbe im Äquator. Nach Entfernung der hinteren Augenhälfte tamponiert man schliesslich den vorderen Abschnitt mit etwas Watte aus.

Noch einfacher ist es, den Bulbus auf gewöhnliche Weise zu enukleieren, denselben im Äquator zu halbieren und dann die vordere Hälfte, nachdem sie mit Watte austamponiert ist, wieder in die Orbita einzusetzen.

Manche helfen sich auch dadurch, dass sie an Stelle des in toto entfernten Sehorgans ein billiges Glas- oder Celluloidauge oder ein in Formol vorrätig gehaltenes Tierauge einsetzen.

Um die Leichenaugen bis zur Enukleation möglichst gut zu konservieren, spritze man baldigst nach dem Tode die Fixationsflüssigkeit in den Glaskörper (vergl. Kapitel VIII., Anwendung der Fixationsmittel).

Zweites Kapitel.

Das Töten und Anästhesieren der Tiere.

Kleinen Reptilien, Amphibien, Fischen, Vögeln schneidet man mit einer starken Schere den Kopf ab und zerstört Gehirn und Rückenmark mit einer Nadel. Säugetiere tötet man durch einen starken Hammerschlag auf den Kopf, oder man lässt sie durch einen kräftigen, bis zur Halswirbelsäule reichenden Schnitt oder nach Festbinden auf einem Operationsbrett durch Anschneiden einer Arteria femoralis verbluten, oder man betäubt sie mit Chloroform.

Zu diesem Zwecke drückt man entweder kleineren Tieren ein mit dieser Flüssigkeit getränktes Tuch gegen die Nase oder bringt grössere Tiere zusammen mit einem solchen Tuch oder Wattebausch unter eine starke Glasglocke oder Holzkiste. Wasseratmer kann man auch durch Chloroform töten, indem man dieses dem Wasser, in dem sie sich befinden, zusetzt. Ganz kleine Tiere, z. B. junge Fischbrut, kann man lebend in die Fixierungsflüssigkeit bringen.

Über den Chloroformtod ist zu bemerken, dass derartig getötete Tiere oft eine sehr störende Blutfülle des Schädels und der innerhalb der Orbita gelegenen Teile aufweisen, die z. B. bei der Injektion von Gefässen, namentlich der Venen, nicht sehr erwünscht ist. Manchmal kann dieselbe allerdings sogar von Vorteil sein, z. B. beim Studium über den Fächer im Vogelauge, der im blutreichen Zustande öfters eine grössere Tiefenausdehnung hat als im blutleeren Zustande.

Zur Anästhesie der Augen dienen Kokaineinträufelungen.

Bei allgemeiner Anästhesie sei man sehr vorsichtig, da die Tiere dabei leicht unterliegen. Ätherinhalationen sind der Chloroformnarkose vorzuziehen.

Der Hund, der den Anästheticis gegenüber besonders empfindlich ist, wird narkotisiert durch Ätherinhalation nach vorheriger subkutaner Einspritzung einer Morphium-Hyoscinlösung (Morphin. hydrochlor. 0,2, Hyoscin. hydrobrom. 0,02, Aq. dest. ad 10,0), 3 ccm für einen Hund mittlerer Grösse.

Drittes Kapitel.

Die Herausnahme des Augapfels und Sehnerven.

Die Art und Weise der Enukleation des menschlichen Bulbus ist jedem Augenarzt so geläufig, dass wir darüber hinweg gehen können.

Will man den ganzen Sehnervenstamm untersuchen, so muss man den im Canalis opticus gelegenen Teil mitsamt dem unverletzten Kanal selbst von der Schädelhöhle her ausmeisseln und darf den Knochen erst nach vollendeter Härtung vorsichtig entfernen. Bei Unterlassung dieser Vorsichtsmassregel kann es sonst leicht geschehen, dass beim Herausmeisseln des Sehnerven einzelne Nervenbündel durch Knochensplitter oder durch die bei der Arbeit verwendeten Instrumente (Meissel, Schere, Pinzette)

gequetscht werden, und dass diese Artefakte bei der Untersuchung als fleckförmige Degeneration (Siegristsche Befunde) imponieren (Elschnig).

Beim Hydrops vaginae N. optici (Stauungspapille) hat man vorgeschlagen, die Zentralgefässe und den Opticus vor der Durchtrennung abzubinden, doch scheint auf die Unterbindung ein zu grosses Gewicht gelegt zu werden; wenigstens dürften ohne diese Manipulation nur ganz geringe Grade von Hydrops übersehen werden; besteht ein höherer Grad, so wird auch nach Abfliessen der den Intervaginalraum ausdehnenden Flüssigkeit die äussere Scheide sich nicht so glatt an die innere anschmiegen können wie unter normalen Verhältnissen und durch Faltung eine pathologische Veränderung zeigen (Treitel). Dagegen empfiehlt es sich, wenn man den Sehnerven nicht vollständig mit dem Augapfel herausnehmen will, ihn mindestens erst nach der Durchtrittsstelle der Vena centralis, also 6—20 mm hinter dem Bulbus, zu durchtrennen.

Bei der **Embolie der Arteria centralis retinae** wird der Bulbus und Sehnerv samt der Carotis interna (von ihrem Austritte aus dem Canalis caroticus angefangen), durch Ausmeisselung des Orbitaldaches der Leiche entnommen, wobei die Wände des knöchernen Kanales des Sehnerven vorläufig mit demselben herausgenommen werden, um eine Quetschung seines Inhaltes durch das Meisseln zu vermeiden; nach geschehener Fixierung werden die Knochenhüllen des kanalikulären Teiles des Sehnerven sorgsam entfernt und mit Alkohol weiter behandelt.

Bei der **vitalen Methylenblauinjektion,** bei **Blut-** und **Lymphgefässstudien** muss man den Bulbus in situ injizieren und dazu manchmal das obere Orbitaldach wegbrechen.

Die Enukleation der Tieraugen geschieht ebenso wie beim Menschen. Zur Erleichterung und schnelleren Ausführung derselben kann man den äusseren Lidwinkel mit einigen Scherenschlägen spalten, die Lider abtragen und sich so den Zugang zur Orbita verschaffen. Bei Tieren mit leicht zerreisslicher Bindehaut fasst man den Bulbus mit der Pinzette nicht an dem Cornealrand der Conjunctiva bulbi, sondern an dem derben Bindegewebe in der Nähe der Nickhaut, bezw. Plica semilunaris. Besonders leicht ist die Enukleation beim Kaninchen, dessen Bulbi sich ohne weiteres nach Einschneiden der Konjunktiva nach vorne luxieren lassen. Um die Augen eines Frosches möglichst schnell zu enukleieren, wickelt man denselben in ein Handtuch ein, bringt eines

der Blätter einer starken geraden Schere in das Maul und zerschneidet mit einem Schnitte den Schädel der Länge nach zwischen Nasenlöchern und Augen hindurch. Dann werden aus beiden Teilen des gespaltenen Schädels die Bulbi herausgenommen, von anhängenden Muskeln und anderem Gewebe rein präpariert und weiter verarbeitet.

Bei Embryonen oder Tieren mit ganz kleinen oder rudimentären Augen ist die Enukleation nicht nötig; man bringt den ganzen abgeschnittenen Kopf, eventuell nach Entfernung des Unterkiefers, in die Fixierungsflüssigkeit.

Literatur. Elschnig, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. 40. II. — Treitel, Arch. Ophth. Bd. 26. III.

Viertes Kapitel.

Die Orientierung am Augapfel.

Um sich am herausgenommenen Auge schnell und sicher orientieren zu können, versäume man nie, sich eine Notiz darüber zu machen, ob das rechte oder linke Auge vorliegt. Ausserdem markiere man sich die Stellung des Auges zur Orbita vor der Enukleation durch ein Zeichen mit dem Höllensteinstift am oberen Rande der Hornhaut, oder man ziehe während oder nach der Enukleation einen Faden durch den jeweiligen zum Halten des Bulbus dienenden Sehnenstumpf, also am rechten Auge durch den Musc. internus, am linken Auge durch den Musc. externus. Sollte man diese Vorsichtsmassregeln einmal vergessen haben, so kann man den betreffenden Sehnenstumpf gewöhnlich schon allein dadurch erkennen, dass er in grösserer Länge erhalten zu sein pflegt als die übrigen dicht an der Sklera abgeschnittenen Augenmuskelsehnen.

Abgesehen von diesen Hülfsmitteln können wir aber auch den anatomischen Bau des Auges zur Orientierung benutzen. Erinnern wir uns, dass die Cornea des menschlichen Auges ein liegendes Oval darstellt, und dass die hinteren langen Ciliararterien zu jeder Seite des Opticus ziemlich genau horizontal in die Sklera eindringen und in dieser Richtung schräg durch dieselbe als dunkle Streifen nach vorne verlaufen, so können wir mit Leichtigkeit den horizontalen Meridian bestimmen. Erinnern wir uns ferner, dass der Sehnerv im unteren inneren Quadranten (und zwar 3—4 mm medianwärts und etwas nach unten vom hinteren Pole) in den Bulbus eintritt, und dass der M. obliq. sup.

unter dem M. rect. sup. zur Sklera ungefähr im vertikalen Meridian und nach hinten vom Äquator tritt, so können wir auch ausfindig machen, wo oben und wo unten ist, und ob wir es mit einem rechten oder linken Auge zu tun haben.

Um sich am Tierauge orientieren zu können, achte man auf die verschiedenen anatomischen Eigentümlichkeiten, so auf die Form des Auges; auf das Überwiegen des horizontalen über den vertikalen Durchmesser (Adler, Bussard, Strauss, Trappe, Ente, Hecht, Haifisch, Kabliau, Stachelroche, Seeschildkröte), auf die geringere Grössenentwicklung der nasalen Augenhälfte gegenüber der temporalen (Pferd, Wolf, Luchs, Eule, Bussard), der oberen gegenüber der unteren (Hecht, Roche), und umgekehrt der grösseren Entwicklung des oberen Augensegmentes gegenüber dem unteren (Rind, Kaninchen, Strauss, grössere Raubvögel).

Man achte auf den Verlauf der Ciliararterien (bei der Katze im horizontalen Meridian, beim Hammel und Kalb unterhalb desselben), auf die Eintrittsstelle des N. opticus nasal vom hinteren Augenpol (Rochen, Haie) oder temporal (Hecht) verschoben, im unteren inneren Quadranten (Affe, Katze, Waschbär, Stachelschwein, Elefant, Walfisch, Pferd), im unteren äusseren (Hund, Kalb, Schaf, Hammel, Ziege, Antilope, Reh, Wolf, Kängeruh, Seehund, alle Vögel und Amphibien), oder im oberen äusseren Quadranten (Kaninchen, Murmeltier).

In den Fällen, wo der Opticus nicht nahezu rechtwinklig an den Bulbus herantritt, sondern mit ihm einen mehr oder weniger spitzen Winkel bildet, kann auch dieser zur Orientierung benutzt werden. Derselbe ist nach oben offen (Katze, Kalb, Hammel), nach unten (Kaninchen), oder nach innen (Vögel und viele Knochenfische, wie Forelle, Hecht, Häring, Barsch, Schellfisch, Mondfisch).

Bei manchen Fischen (Hecht, Lachs, Rochen, Haifisch) findet sich an der medialen Seite des Opticus ein sehnenartiger Strang.

Auch den Eintritt der Art. centralis retinae in den Opticus können wir zur Orientierung verwenden. Diese Stelle markiert sich bei den Menschen und Säugetieren äusserlich durch eine papillenartige Erhebung der Duralscheide 6—20 mm hinter dem Augapfel im unteren medialen Quadranten des Opticus. Bei den niederen Wirbeltieren treten die Blutgefässe, welche der Art. centralis retinae der Säugetiere homolog sind, ebenfalls an der medialen unteren Seite des N. opticus in das Innere des Auges. So verläuft z. B. bei den Fischen die Art. hyaloidea in

einer im medialen unteren Quadranten des Opticus verlaufenden Rinne.

Was die Augenmuskeln betrifft, so sind die Insertionslinien der vier geraden Augenmuskeln beim Menschen zwar ungleich weit vom Hornhautrande entfernt, doch ist der Unterschied zu wenig deutlich, als dass er zur Orientierung verwandt werden könnte. Man erinnere sich nur, dass der Abstand des M. rectus externus vom Hornhautrande ein grösserer zu sein pflegt, als der des M. rectus internus, und der des M. rect. sup. grösser als der des M. rect. infer., ferner dass der M. obliq. sup. unter dem M. rect. sup. zur Sklera ungefähr im vertikalen Meridian und nach hinten vom Äquator tritt, und dass der M. obliq. infer. am hinteren unteren äusseren Quadranten des Bulbus, $2\frac{1}{2}$—7 mm vom Sehnerven entfernt, endigt.

Sehr mannigfaltig sind die Verschiedenheiten, die das Augenende der Obliqui bei den Wirbeltieren darbieten. Im allgemeinen liegt dasselbe neben der Insertion der M. M. rect. sup. und inf., und zwar entweder auf gleicher Höhe mit ihnen oder weiter nach der Schläfenseite zu. Bei den Fischen liegt die Insertion der Obliqui gewöhnlich vor den betreffenden Recti und nach aussen von denselben. Bei den Vögeln inseriert der Obliq. inf. an der Aussenfläche des Rectus, ebenso beim Elephanten. Manchmal kommt auch eine doppelte Insertion der Obliqui durch Spaltung derselben zustande (Tiger, Löwe). Zu erwähnen sind hier noch der Retractor oculi (bei den Säugetieren mit Ausnahme des Affen; bei den Cetaceen, Schildkröten, Eidechsen und ungeschwänzten Batrachiern), der sich mit vier Zipfeln in den Zwischenräumen der Recti an den Bulbus festsetzt, und der M. quadratus und M. pyramidalis bei den Vögeln. Beide liegen an der hinteren Fläche des Bulbus. Der erstere entspringt unterhalb des Rectus und Obliq. sup. und endigt oberhalb des Opticus in einer kurzen von einem Kanale durchsetzten Sehne. Der letztere zieht von der medialen Bulbusseite mit einer schlanken Sehne nach oben, verläuft dann durch den Kanal des M. quadratus und wieder abwärts nach aussen vom Opticus bis zum unteren Rande des Augengrundes, um schliesslich in die Bindesubstanz der Nickhaut auszustrahlen. Ein ähnlicher Muskelapparat findet sich auch bei den Eidechsen, Krokodilen und Schildkröten.

Wir gehen jetzt auf einige Eigentümlichkeiten der Cornea, Iris, Retina etc. ein, welche uns namentlich am aufgeschnittenen Auge die Orientierung erleichtern.

Die querovale Form der Cornea, die beim Menschen, Schimpansen, Hasen, Elefanten und Reh nur wenig ausgeprägt ist, springt deutlich in die Augen beim Rind, Pferd, Walfisch. Beim Hasen und Schimpansen ist noch zu bemerken, dass der nasale Rand der Cornea kreisrund, der Schläfenrand dagegen elliptisch ist. Bei den Huftieren (Pferd, Rind, Reh etc.) und Cetaceen ist die ovale Form der Cornea an der Nasenseite breiter und stumpfer gerundet als an der Schläfenseite.

Bei dem Frosch und den Fischen ist der Vertikaldurchmesser zirka um ein Siebentel kürzer als der Horizontaldurchmesser. Bei den Rochen beträgt der erstere nur den dritten Teil des letzteren. Bei diesen Tieren kommt noch hinzu, dass der obere Rand der Cornea leicht geschweift ist, wodurch dieselbe eine fast nierenförmige Gestalt annimmt. Die Cornea der Haifische zeichnet sich dadurch aus, dass ihr innerer und oberer Rand deutlich gerundet ist, während der äussere und untere eine elliptische Form hat.

Die Form der Pupille kann, so lange sie sich im Zustande der Kontraktion befindet, auch zur Orientierung benutzt werden. Dieselbe ist queroval (Pferd, Rind, Ziege, Känguruh, Murmeltier, einige Eichhörnchen, Sirenen, Bartenwale), leicht oval in vertikaler Richtung (Lemuren, Galagos, Füchse, Waschbär, Lycaon, Hyäne, Melursus, Coipen, Capybara) oder vertikal schlitzförmig (Katze, Fuchs, Seehund, Seelöwe, Eulen, Krokodil, einige Schlangen, Weissfische und Welse).

Die Pupille ist birnförmig bei den Salmoniden und Percoiden, herzförmig bei den Delphinen, und bildet ein fast rhombisches queres Oval bei den Fröschen, Salamander, Geckonen etc.

Die Pupille rückt aus ihrer zentralen Lage etwas nach innen bei den Raubvögeln, nach oben beim Pferd, Zebra und bei den Rochen. Bei letzteren und ähnlich bei den Pleuronectiden ist auch der obere Rand der Pupille in einen blattartig zerschlitzten Fortsatz verlängert.

Die Asymmetrie zwischen Nasen- und Schläfenseite des Bulbus, von der wir oben gesprochen haben, findet sich auch am Corpus ciliare.

Fügen wir noch hinzu, dass das Lig. suspensorium bei den Fischen sich am oberen Pole der Linsenkapsel ansetzt, so dürfte wohl auf alles wichtige aufmerksam gemacht worden sein, was für unsere Zwecke am vorderen Bulbusabschnitt in Betracht kommt.

Der Proc. falciformis im Fischauge leitet uns zur Betrachtung der hinteren Augenhälfte über. Derselbe verläuft vom Sehnerven auf der Innenfläche des unteren Augenrandes bis dicht an die Iris und befestigt sich am Äquator der Linsenkapsel als Campanula dem Lig. suspensorium gegenüber.

In ähnlicher Weise sitzt der Fächer (Pecten) im Vogelauge der Eintrittsstelle des Sehnerven auf und findet sich an dem nach unten und aussen gewandten Segmente des Augengrundes, an dem derselbe einen meridionalen Verlauf einhält. Im Auge der Taube liegt vor und hinter demselben das gelbe Feld, welches ungefähr drei Viertel des Flächenraumes der Retina einnimmt, während das letzte Viertel, der obere hintere oder temporale Quadrant fast ganz vom roten Felde eingenommen wird.

Die Lage der Papille richtet sich nach der oben angeführten Eintrittsstelle des N. opticus. Ihre Gestalt ist manchmal queroval (meiste Pferdearten und Zweihufer, Cynictis), rauten- oder nierenförmig (Wolf, Fuchs, Schakal), streifenförmig in schiefer Richtung von oben aussen nach unten innen verlaufend (viele Ficshe).

Die markhaltigen Nervenfasern beim Kaninchen und Hasen strahlen in horizontaler Richtung vom Sehnerven aus.

Eine Macula lutea und Fovea centralis findet sich ausser bei dem Menschen nur noch bei den Affen. Sie liegt lateral von der Papille. Eine deutlich sichtbare Fovea findet sich sonst noch bei den Vögeln, namentlich den Raubvögeln. Dieselbe liegt entweder am hinteren Pole des Auges oder mehr nach der Schläfenseite hin. Einige Vögel haben ausserdem noch eine zweite Fovea, die stets der Schläfenseite zugehört.

Das Tapetum liegt bei den Haussäugetieren oberhalb der Papille des Opticus.

Schliesslich ist noch die oft hufeisenförmig gestaltete Chorioidealdrüse der Knochenfische zu erwähnen, die nach der Eintrittsstelle des Sehnerven hin offen ist.

Fünftes Kapitel.

Die Sektion des Augapfels.

1. Durchschnitte des Augapfels.

Man kann den frischen Bulbus entweder in horizontaler oder in vertikaler Richtung aufschneiden. Ein Horizontalschnitt, der

die gegenseitige Lage a l l e r Teile des Auges zur Anschauung bringt, ist sicher lehrreicher, als ein Äquatorialschnitt, der die Innenfläche der vorderen und hinteren Augenhälfte überschauen lässt. Trotzdem zieht man für gewöhnlich den letzteren vor, weil bei der Anfertigung des Horizontalschnittes die Linse leicht verschoben und dadurch das Präparat zerstört werden kann.

Um die Schnitte auszuführen, legt man den von allen ihn umgebenden Teilen sorgfältig rein präparierten Augapfel auf eine weiche Unterlage (Handtuch, Korkplatte, Seife oder Schweizer Käse), in die man ohne Schaden hineinschneiden kann, und fixiert ihn ganz lose mit dem Daumen und Zeigefinger der linken Hand. Die Art des Durchschnittes (im Äquator oder Meridian) bestimmt die zwei Pole des Bulbus, an welche die Finger anzulegen sind. Der Bulbus wird dann mit einem scharfen, dünnen Messer, Rasiermesser oder Lamellenmesser, in einem Zuge durchgeschnitten. Der gleichmässige Druck der Finger verhindert während des Schnittes ein Ausfliessen des Glaskörpers.

Man kann auch so verfahren, dass man mit dem Rasiermesser einen kleinen Einschnitt parallel dem Hornhautrande durch die drei Häute des Augapfels macht, den Bulbus dann mit einer Pinzette fixiert und ihn von dem Einschnitt aus durch ringsherum geführte Schnitte mit einer geraden Schere in einen vorderen und hinteren Abschnitt zerlegt. Diese Art des Aufschneidens gelingt noch leichter, wenn man den Bulbus dazu in eine Schale mit physiologischer Kochsalzlösug bringt und ihn in dieser Flüssigkeit zerlegt.

Über das Aufschneiden des gehärteten Augapfels s. Kap. VIII,5.

2. Schichtenpräparation des Augapfels.

Dieselbe besteht in der schichtenweisen Entfernung der einzelnen Augenhäute. Zur Einübung derselben benutze man Schweineaugen. Um die Sklera abzupräparieren, lege man den gereinigten Augapfel auf ein zusammengefaltetes Tuch, fixiere ihn mittelst Daumen und Zeigefinger in seinem geraden Durchmesser und schneide mit einem scharfen Messer in sägenden Zügen senkrecht zu diesem Durchmesser die Sklera an einer beliebigen Stelle ihres grössten Umfanges durch, so dass man die braune Chorioidea durchscheinen sieht. Um die Aderhaut nicht zu verletzen, kann man vielleicht noch vorsichtiger verfahren, indem man mit einer flach gehaltenen Schere einen kleinen Ausschnitt aus der Sclerotica zu bewirken sucht. Indem man

einen Schnittrand der Sklera mit der Pinzette fixiert, bringt man das spitze Blatt einer geraden Augenschere jetzt vorsichtig und schräg in die Wunde der Sklera hinein und macht einen kreisförmigen Schnitt durch die Lederhaut. Man macht zu diesem Zwecke erst einige kleine Schnittchen mit dem spitzen Scherenblatt, dann führt man das stumpfe Blatt der Schere ein, schliesst diese aber nur so weit, dass der Bulbus zwischen den Spitzen der Schere sitzen bleibt. Pinzette und Schere rücken hierbei immer vorwärts, bis der Zirkelschnitt vollendet ist.

Von diesem Zirkelschnitt aus werden dann vier Meridianschnitte auf dieselbe Weise gegen die Cornea geführt und die vier Lappen von der unterliegenden Chorioidea abgelöst. Das geschieht am besten unter Wasser in einer nicht allzu hohen Glasschale, die zur Stütze der Hand mit einem zusammengedrehten Handtuch umgeben ist. Das Zurückschlagen der Lappen gelingt leicht bis zum Orbiculus ciliaris; hier ist die Sklera mit der Chorioidea und dem Ciliarmuskel so innig verbunden, dass man diese Verbindung am besten hart an der Sclerotica mit dem Messer lockert. Sind alle vier Lappen auf diese Weise lospräpariert worden, so können sie im Zusammenhang mit der Cornea abgehoben werden.

Auf dieselbe Weise wird das hintere Segment der Sklera in vier Lappen zerlegt und diese bis zum Sehnerveneintritt lospräpariert. Die Ciliargefässe und Ciliarnerven, die die Sklera durchbohren und in die Chorioidea eintreten, werden dabei durchrissen oder durchschnitten, und schliesslich die Sklerotikallappen am Opticuseintritt abgeschnitten.

Hierauf wird die Uvea unter Wasser an ihrem grössten Umfange durch einen Kreisschnitt getrennt. Um eine Öffnung in die Chorioidea zu machen, ohne die Retina zu verletzen, hebt man dieselbe mit einer spitzen Pinzette, nicht in ihrer ganzen Dicke, sondern nur an der äusseren Gefässschicht etwas empor, setzt eine andere Pinzette daneben und reisst jetzt die Chorioidea durch einen kleinen Ruck beider Pinzetten ein. Man setzt dann den Riss vermittelst der Pinzetten allmählich um den ganzen Bulbus herum fort, oder vollendet, was schwieriger ist, den Kreisschnitt mit der Schere.

Von demselben aus werden dann vier Meridianschnitte nach vorn und nach hinten zu gemacht und die entstehenden Lappen zurückgeschlagen, so dass die Retina freiliegt. Die vier hinteren Lappen werden rings um den Sehnerv herum abgeschnitten. Am

vorderen Umfang des Bulbus haften Chorioidea und Retina fest aneinander; es gilt, hier die Verbindung zwischen Zonula Zinnii und den Processus ciliares zu lösen. Zu diesem Zwecke fasst man die Lappen der Chorioidea mit der Pinzette und sucht mit dem zugeschärften Stiel des Skalpells das Corpus ciliare von der Zonula abzudrängen und abzureissen. Die vollständige Trennung geschieht dann leicht durch etwas Zupfen und Schütteln unter Wasser.

Die Retina ist so freigelegt. Man kann dieselbe noch von dem Glaskörper mit einem Messer abstreifen und letzteren nebst der Linse in einem Uhrglas auffangen. Um die Linse von ihrer Kapsel zu isolieren, macht man an einer Stelle des Randes einen Einschnitt und drängt die Linse durch Kompression heraus.

Sechstes Kapitel.

Die Konservierung des Augapfels.

Um das Auge zu Demonstrationszwecken zu konservieren, stehen uns vier verschiedene Methoden zur Verfügung: I. das Trocknen des Augapfels, II. das Aufbewahren in konservierenden Flüssigkeiten, III. der Einschluss in Gelatine, IV. das trockene Aufbewahren von Celloidinpräparaten.

I. Trocknen des Augapfels.

Man sticht am hinteren Ende des möglichst lang gelassenen Sehnerven eine Starnadel durch die Achse des Nerven in den Glaskörper und führt diese so oft, mit fortwährender Drehung um ihre Achse, im Nerven vor und zurück, dass das Mark desselben gänzlich zerstört, und nur das dicke Neurilemma unversehrt bleibt. Der in einen Kanal verwandelte Sehnerv dient dazu, den Inhalt des zwischen den Fingern geknetetenAugapfels auszupressen. Da die Chorioidea und Iris, sowie die Linse zurückbleiben, so müssen erstere mit einem Starhäkchen, mittelst welchem sie erfasst und durch Drehen um dasselbe gewickelt werden, hervorgeholt, und letztere, welche man beim seitlichen Komprimieren des Bulbus zwischen den Fingern fühlt und fixiert, durch eine Inzisionsnadel zerstückelt und mit den Fingern vollends zerdrückt werden. Immer färbt sich das Innere des Auges bei dieser Operation durch das Augenpigment schwarz, weshalb der entleerte Bulbus wiederholt mit Wasser auszuspritzen ist, um ihn nach dem Aufblasen und Trocknen hell und durchscheinend zu machen. (J. Hyrtl.)

Etwas weniger umständlich ist es, den Augapfel zu halbieren und dann zu trocknen. Man verfährt zu diesem Zwecke so, dass man zuerst den Bulbus gut fixiert (etwa in Formol), dann härtet, auf-

schneidet und nach vollkommener Entwässerung in absolutem Alkohol auf einige Tage in gereinigtes Terpentin bringt. Die gut mit Terpentin durchtränkten Stücke werden dann in ein Gläschen gelegt und dieses so zugedeckt, dass das Terpentin nur sehr langsam verdunsten kann. Auf diese Weise erhält man vorzügliche Trockenpräparate des Auges, an denen namentlich der Ciliarkörper, die Zonula Zinnii, der Fontana sche Raum etc. deutlich zu sehen sind. Die Linse pflegt sich bei dieser Behandlung bis auf den Kern zu spalten, so dass man hübsche Übersichtspräparate über Linsenkern und Rinde gewinnt.

II. Aufbewahren in konservierender Flüssigkeit.

Man fixiert und härtet den Bulbus in 10 proz. Formaldehydum solutum und Alkohol (vergl. Kap. VIII), halbiert ihn dann im Äquator oder in einem Meridian und bewahrt die Hälften in 80 proz. Alkohol in vierseitigen Glaskästen (Höhe 5 cm, Breite 3 cm, Tiefe 3 cm) auf, an deren eine Wand man dieselben nach kurzem Aufenthalt in destilliertem Wasser mit Hülfe von Gelatine oder Glyzerin-Gelatine festklebt. (Man lässt Gelatine einige Stunden in Wasser aufquellen, giesst dann das Wasser ab, übergiesst die aufgequollene Gelatine mit dem gleichen Volumen Glyzerin und löst dieselbe durch Kochen. Ein Zusatz von einer Spur Sublimat verhindert die Fäulnis. Die flüssige Masse wird durch Leinwand filtriert und erstarrt dann. Zum Gebrauch erhitze man ein wenig von dieser Masse auf einem alten Skalpell über der Flamme und klebe das Präparat mit einem Tropfen der geschmolzenen Gelatine fest.) Für Demonstrationszwecke ist es manchmal noch vorteilhafter, die Augenhälften nicht an die Wand des Glaskastens zu kleben, sondern auf eine weisse Glasplatte, die man mit dem Präparat jederzeit aus dem Aufbewahrungsgefäss wieder herausnehmen kann. Wenn das Präparat nach 1—2 Minuten angetrocknet ist, werden die Glaskästen mit dem Alkohol bis zum Rande gefüllt und die angewärmte Deckscheibe darauf mittelst erwärmten Kautschukkittes[1]) (durch Zusammenschmelzen von alten Kautschukschläuchen und Paraffin herzustellen. Sehr gut ist auch der Frey sche Glaskitt: 1 g Kautschuk und 10 g Mastix in 40 ccm Chloroform gelöst) luftdicht festgeklebt.

In derartig hergestellten Präparaten pflegt sich nur die Linse zu trüben, die Cornea behält ihre Durchsichtigkeit, und die Form

[1]) Erhältlich bei Miersch, Berlin, Friedrichstrasse 66.

und Blutfarbe des Organs bleibt erhalten. Letzteres beruht darauf, dass sich das Oxyhämoglobin im Formol in saures Hämatin umwandelt und dass aus diesem im Alkohol alkalisches Hämatin hervorgeht, welches dem Oxyhämoglobin in seiner Farbe sehr ähnlich ist.

Diese Methode ist einfach und praktisch, sie hat den grossen Vorzug, dass die Präparate, falls es sich als nötig herausstellen sollte, später noch zur mikroskopischen Untersuchung weiter bearbeitet werden können, und ist zur Demonstration ebenso geeignet wie das umständlichere Verfahren der Gelatineeinbettung.

Methode von Blessig.

Die Augen werden einige Tage in 5 proz. Lösung des käuflichen Formalins fixiert (ein längeres Verweilen schadet nicht) und kommen dann nach Umhüllung mit einem dünnen Guttaperchabeutel oder ölgetränkten Seidenstoff in ein Gemisch von Eis und Salz. Nachdem sie gleichmässig hart gefroren, werden sie mit einem starken keilförmigen Rasiermesser auf einer Korkplatte halbiert, kommen nacheinander auf je 24 Stunden in 5 proz. Chloralhydratlösung, dann in 15 proz. und 20 proz. und endlich in 50 proz. Glyzerinlösung in Wasser plus einigen Tropfen Formalin.

Anm. Andogsky empfiehlt zur Fixierung von Menschenaugen, die im Operationskurs verwendet werden sollen, das Formaldehyd in 0,1 bis 0,5 pCt. Lösung, 5—7 Tage lang. Diese konserviert das Auge auf einige Zeit, erhält die Durchsichtigkeit der brechenden Medien und verleiht dem Auge eine zum Operieren günstige Härte. Will man die Augen länger als 7 Tage aufbewahren, so überträgt man sie in eine Thymollösung (1: 5000), worin sie sich einige Wochen in brauchbarem Zustande erhalten.

Wladitschensky gibt zur Konservierung enukleierter Tieraugen für den Operationskurs folgende Methode an: Die frisch entfernten Augen werden in eine Lösung von Formalin 1,0, Glyzerin 1,0 und Kochsalzlösung (0,9proz.) 100,0 gebracht auf 2—4 Tage; dann auf weitere 3 Tage in 30proz. Alkohol, dann in 15proz. Alkohol, wo sie lange bleiben können. Die Hornhaut bleibt klar, die Linse jedoch trübt sich. Um die Iris zur bequemeren Ausführung der Iridektomie zu verengern, legt man das Auge vorher auf kurze Zeit in eine ½ proz. Eserinlösung.

III. Einschluss in Gelatine.

1. Methode von Tchemolossow.

(Modifikation eines zuerst von Priestley Smith angegebenen Verfahrens.)

a) Die Augen werden wie in dem eben geschilderten Blessigschen Verfahren behandelt. Nach 24 stündigem Ver-

weilen in der 50 proz. Glyzerinlösung (in der sie zu Boden sinken) sind sie zur Einbettung in Gelatine fertig.

b) 1 Teil bester weisser Gelatine und 8 Teile destillierten Wassers bleiben 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen; darauf setzt man 8 Teile reinen Glyzerins zu. Die Mischung wird im Wasserbade bis zu 45—50° C erwärmt. Nach vollständiger Lösung der Gelatine setzt man (zur besseren Klärung der Flüssigkeit) zu dieser Mischung das Weisse von Hühnereiern, und zwar auf 1 Liter der Mischung das Weisse von 2 Eiern. Die Mischung wird nun in den Koch schen Dampfsterilisator gestellt und bleibt dort bei 100° C ¼ Stunde stehen. Nach der Sterilisation wird Thymol (1 g auf 1 Liter) zugesetzt und das Ganze filtriert.

Zum Gebrauch wird die so zubereitete Gelatine im warmen Wasserbade bis zu dünnflüssigem Zustande erwärmt und in eine kleine Glasdose mit plangeschliffenem Boden, die das Präparat aufnehmen soll, bis zur halben Höhe des letzteren gefüllt.

c) Die zur Einbettung in die Gelatine bestimmte Hälfte des Auges wird, mit der Schnittfläche nach oben, in die flüssige Gelatine versenkt und unter deren Oberfläche vorsichtig, mit Vermeidung von Luftblasen, umgekippt. Hat das Präparat die Neigung, in der Gelatine aufzusteigen, so wird es bis zum Erstarren der letzteren mit einer feinen Nadel zu Boden gedrückt.

d) Nachdem die Gelatine erstarrt ist, wird die Glasdose von oben durch einen aufgeschliffenen Glasdeckel mittelst Kanadabalsam luftdicht verschlossen.

In solchen Präparaten behalten die brechenden Augenmedien ihre Durchsichtigkeit und die übrigen Teile des Augapfels ihre natürliche Farbe. In Menschenaugen trübt sich die Linse etwas und nimmt eine grünlich-gelbe Färbung an, wogegen bei Tieren (Hase, Kaninchen, Schwein, Schaf, Katze) dieselbe vollständig durchsichtig bleibt.

2. Methode von Petrow.

(Modifikation des bekannten Kaiserling schen Verfahren.)

a) Die Augen kommen zuerst in ein Gemisch von 1 Teil folgender Flüssigkeit:

Formalin	800,0
Kal. acet.	85,0
Kal. nitr.	45,0
Aq. dest.	4000,0

mit 2 Teilen Wasser auf 3—5 Tage.

b) Dann auf 6—12 Stunden in 70 proz. Alkohol zwecks Wiederherstellung der Farbe. Das Auge wird halbiert, um eine Hälfte der mikroskopischen Untersuchung zu erhalten; die andere Hälfte wird zwecks makroskopischer Aufbewahrung

c) weiter übertragen in:

Kal. acet.	200,0
Glyzerin	300,0
Aq. dest.	900,0

auf 1—2 Tage im Thermostat, bis das Präparat untersinkt.

d) Weitere Übertragung in dieselbe Lösung, der auf 200 ccm 6 Blatt Gelatine zugesetzt worden sind, auf 6—12 Stunden.

e) Übertragen in eine Glyzerin-Gelatine-Formalinlösung. Es wird dazu eine Lösung von

Gelatine	250,0
Glyzerin	40,0
Aq. dest.	100,00

bereitet, der 50 ccm Sublimatlösung (1:2000) zugesetzt werden; von dieser filtrierten Lösung wird eine Schale angefüllt, in der das Präparat eingebettet werden soll, wobei kurz vorher je 30 ccm Gelatinelösung mit 10—15 Tropfen 40 proz. Formalin versetzt und gemischt werden. Bedecken mit Glasdeckel und Verschmieren mit Kanadabalsam oder Asphaltlack (Asphalt 115 g, Leinöl 120 g, Terpentinöl 280 ccm).

Auch mit dieser Methode erhält man sehr schöne Präparate.

3. Methode von Vermes.

Dieselbe verbindet die Vorteile der Gelatine-Einschliessung mit denen der Aufbewahrung in Flüssigkeit. Die in Formalinlösung fixierten Bulbi kommen nach Auswaschen in Wasser auf einige Minuten in eine dünne Gelatinelösung, oder es werden die Schnittflächen der feinen Augenhäute mit dicker Gelatine verklebt. Nachher werden die Präparate mit Gelatine an die Wand einer Glaskuvette fixiert. Aufbewahrung in 10 proz. Formalinlösung. Durch diese Methode wird die allmähliche Zerbröckelung der inneren Augenhäute verhindert.

IV. Trockene Celloidinpräparate.

Methode von Halben.

Die in Celloidin, resp. Photoxylinblöcken eingeschlossenen Präparate werden in Chloroformdämpfen gehärtet, in Chloroform

und Zedernöl aufgehellt (vergl. Celloidintrockenmethode, Kap. VIII), mit scharfem Messer zurechtgeschnitten, und dann nach oberflächlicher Abtrocknung mit einem Lack überzogen, der von Grübler, Leipzig, zu beziehen ist. Der Überzug verleiht dem Objekt eine glatte durchsichtige Oberfläche, und schützt es vor Verdunstung, Schrumpfung und Trübung.

Vor der Glyzeringelatinemethode hat dieses Verfahren grössere Transparenz, Transportalität und Zugänglichkeit für allseitige Betrachtung im auffallenden und durchfallenden Lichte voraus. Ein weiterer Vorteil ist der, dass man zu weiteren Detailstudien einen solchen Block jederzeit in beliebiger Richtung durchschneiden und die Teilstücke durch einfachen erneuerten Lacküberzug wieder haltbar machen kann.

Literatur.

Andogsky, Arch. f. Augenheilk. Bd. 30. 1895. — Blessig, St. Petersb. Ophth. Ges. 29. IX. 1905. — Klin. Monatsbl. 1906. II. — Halben, Zeitschr. f. Augenheilk. Bd. 12. 1904. — Hyrtl, Handb. d. prakt. Zergliederungskunst. 1860. — Petrow, Mosk. ophth. Ges. 9. IV. 1908. — Westn. Ophth. 1909. S. 427. — Zeitschr. f. Augenheilk. Bd. 23. 1910. S. 179. — Smith, Ophth. Review. Lond. März 1883. — Tschemolossow, Wratsch. XVII. 1896. — Comptes rend. du XII. Congrès internat. de Médecine. 1897. Vol. VI. — Vermes, Ber. über die IV. Vers. der ungar. ophth. Ges. in Budapest. Juni 1908. — Zeitschr. f. Augenheilk. Bd. XX. 1908. — Wladitschensky, Westn. Ophth. XXVI. 1909.

Siebentes Kapitel.

Untersuchung frischer anatomisch-pathologischer Präparate.

Während der pathologische Anatom vom Fach das Organ, welches er mikroskopisch untersuchen will, vorher zerkleinert und nur möglichst kleine Stückchen für die mikroskopische Untersuchung bearbeitet, zieht der Ophthalmologe es im allgemeinen vor, den Augapfel nicht frisch zu durchschneiden und ihn zu untersuchen, sondern erst nach vorheriger Fixierung und Härtung des ganzen Organes. Es geschieht dies deshalb, weil selbst beim vorsichtigsten Aufschneiden des frischen Bulbus (Kap. V, 1) gewisse Läsionen, wie Ablösung der Retina und Chorioidea, Zerreissen der Zonula, Verlust des Glaskörpers mehr oder weniger unvermeidlich sind. In pathologisch veränderten Augen können ausserdem Exsudate und Blutergüsse, deren histologische Untersuchung sehr erwünscht gewesen wäre, leicht verlustig gehen.

Trotzdem gibt es gewisse Fälle, in denen man diese Nachteile mit in den Kauf nehmen und auf die Vorteile der Fixierung des Präparates (Kap. VIII) verzichten muss. Dieses ist der Fall:

1. wenn es einem auf das makroskopische Aussehen des frischen Bulbus und seines Inhaltes, auf die Grösse, Farbe, Konsistenz und Lage eines intraokularen Tumors, Parasiten oder Fremdkörpers ankommt.

2. wenn es einem nur darauf ankommt, einzelne Teile des Augeninhaltes, also z. B. Retina, Linse, Geschwülste, Exsudate etc. der mikroskopischen Untersuchung zugänglich zu machen;

3. wenn ein Teil des Auges, z. B. die Retina, mit verschiedenen Reagentien behandelt werden soll;

4. wenn eine Schnelldiagnose unbedingt nötig ist.

Das auf diese Weise erhaltene Material besteht 1. aus Flüssigkeiten, 2. aus Gewebsstückchen.

1. Untersuchung von Flüssigkeiten.

Man bringt ein Tröpfchen Blut, Eiter, Exsudat, Cysteninhalt, Glaskörper etc. mit einem Glasstab oder einer Platinschlinge auf einen Objektträger[1]), bedeckt ihn mit einem Deckgläschen und untersucht sofort mit dem Mikroskop. Auch die Untersuchung im „hängenden Tropfen" oder die „Deckglastrockenmethode" ist manchmal angebracht (vergl. Kap. XX).

2. Untersuchung von Gewebsstückchen.

Je nach Natur und Konsistenz des Gewebes fertigt man verschiedene Präparate an:

a) Abstrichpräparat. Man stellt sich bei weichen Präparaten, z. B. Netzhautgliom, eine frische Schnittfläche her, streicht mit einem trockenen Skalpell darüber und bringt das anhaftende Material in einem Tropfen indifferenter Zusatzflüssigkeit auf den Objektträger. Auch die Innenwand von Echinococcuscysten kann man auf diese Weise abstreichen, und beim lebenden Menschen die trachomatöse Bindehaut (vergl. Kap. XX).

b) Quetschpräparat. Ein kleines Gewebsstückchen, z. B. ein ausgedrücktes Trachomkorn wird auf den Objektträger ge-

[1]) Bezugsquellen für Glaswaren und sonstige mikroskopische Utensilien sind: P. Altmann, Berlin, Luisenstrasse 47; F. u. M. Lautenschläger, Berlin, Chausseestrasse 92; und Frankfurt a. M., Kaiserstr. 53; Wagner und Munz, München, Karlstrasse 43.

bracht, mit einem Deckglas oder anderen Objektträger bedeckt und zwischen diesen beiden Glasplatten zerquetscht.

c) Zupfpräparat. Bei festeren Geweben, z. B. Augenmuskeln, Chorioidealsarkom, ferner zur Isolation der Netzhautelemente bringt man ein Partikelchen in einen Tropfen indifferenter oder mazerierender Zusatzflüssigkeit auf den Objektträger und zerzupft es mit zwei spitzen Nadeln in möglichst feine Stückchen, eventuell unter der Lupe, als welche ein mit einem Convexglas bewaffnetes Brillengestell dienen kann.

d) Hackpräparat. Man bringt ein kleines Netzhautstückchen (1 : 2 mm) in etwas physiologische Kochsalzlösung auf den Objektträger und benutzt dazu nur so viel Flüssigkeit, dass das Netzhautstückchen fest am Objektträger ankleben kann. Dann versuche man mit einem sehr scharfen Rasiermesser, indem man vertikal hackt, Profilschnitte zu erhalten, was mit einiger Übung leicht gelingt (vergl. Kap. XIII).

e) Schnittpräparat. Hartes Gewebe schneidet man mit dem Rasiermesser. Man setzt das Messer flach auf die Schnittfläche des mit der anderen Hand gehaltenen Objektes und schneidet gegen sich zu (nicht von sich weg). Das von Fett befreite Messer und die Schnittfläche müssen ausreichend befeuchtet sein, damit die dünnen Schnittchen nicht zerreissen, sondern sich auf der feuchten Klinge hinaufschieben. Beim Schneiden ist jeder Druck möglichst zu vermeiden, man ziehe mit fixiertem Handgelenk die Klinge unter Ausnutzung ihrer ganzen Länge durch das Gewebe hindurch. Anstatt des Rasiermessers kann man auch ein Doppelmesser mit zwei haarscharfen, gegeneinander verstellbaren Klingen benutzen. Nach vollführtem Schneiden (mit fettfreier und befeuchteter Klinge) wird das Doppelmesser geöffnet und der Schnitt mit physiologischer Kochsalzlösung auf den Objektträger geschwemmt.

Objekte, die zu klein sind, um mit der Hand gehalten werden zu können, müssen eingeschlossen werden. Dazu benutzt man:

α) Hollundermark[1]) (vergl. Golgische Methode, Kap. IX.) Ein künstliches Hollundermark wird so hergestellt, dass man verflüssigte Gelatine mit Ricinusöl gut durchschüttelt und nach dem Erkalten das fein verteilte Öl mit Alkohol auslaugt. Es entsteht dann eine feinporige, gut schneidbare Masse (Mayer).

β) Klemmleber. Dazu eignet sich Rindsleber oder am besten Leber mit starker Amyloidentartung, die man in Würfel

[1]) Zu erhalten bei Dr. G. Grübler u. Co., Leipzig, Liebigstrasse 1.

von 2—3 cm Kantenlänge schneidet und in absolutem Alkohol härtet. Ein solches Stückchen Leber spaltet man durch einen Schnitt mit einem scharfen Skalpell und steckt in den Spalt das zu schneidende Objekt. Gleichzeitig mit der Leber schneidet man das Präparat in dünne Scheibchen.

Von der Retina kann man gute Querschnitte erhalten, wenn man ein Stück frischer Retina auf einem glatten Leberstück als Unterlage ausbreitet, mit einer sehr feinen Klinge unter Führung beider Hände im Trockenen schneidet und dann das zarte Schnittchen durch einen Tropfen Zusatzflüssigkeit suspendiert, um es mittels eines Spatels in einem grossen Tropfen unversehrt auf den Objektträger zu bringen. (Israël.)

f) Gefriermikrotomschnitte (vergl. Gefriermikrotom, Kap. VIII g) sind nur empfehlenswert nach vorhergehender Formolfixierung, da die Gewebsstruktur durch das Gefrieren stark geschädigt wird. Für die zarten Gewebe des Auges eignet sich dieses Verfahren überhaupt schlecht: die inneren Membranen lösen sich im Schnitt ab und geraten durcheinander.

Zusatzflüssigkeiten.

Zu näherem Studium des frischen Präparates dienen die Zusatzflüssigkeiten. Man setzt dem auf dem Objektträger befindlichen Gewebe nur einen kleinen Tropfen der betreffenden Flüssigkeit zu, und bedeckt es dann mit einem Deckglas. Nimmt man zu viel Flüssigkeit, so schwemmt dieselbe das Deckglas weg, oder die einzelnen Zellen des Präparates geraten in eine störende Bewegung.

Will man die unter dem Deckglase befindliche Flüssigkeit mit einer anderen vermischen, oder durch eine andere ersetzen (Essigsäure, Farblösung), so saugt man dieselbe mit einem Stück Filtrierpapier, das man an die eine Deckglasseite hält, ab. An die andere Seite des Deckglases bringt man vermittelst eines Glasstabes einen kleinen Tropfen der neuen Zusatzflüssigkeit, die man auf diese Weise mit Hülfe des Fliesspapieres durch das ganze Präparat hindurchziehen kann.

Als Zusatzflüssigkeiten dienen:

I. Indifferente Flüssigkeiten.

Diese haben den Zweck, die Zellen unter möglichst den Körperverhältnissen entsprechenden Verhältnissen zu untersuchen. Als solche kommen in Betracht:

a) Augenflüssigkeit (Kammerwasser, Glaskörperflüssigkeit). Man entnimmt das Kammerwasser am besten dem eben getöteten Tiere mittelst einer Pravazspritze, deren Kanüle man durch die Hornhaut in die vordere Kammer einführt.

b) Physiologische Kochsalzlösung. Dieselbe ist isotonisch für den Warmblüter 0,9 pCt., für den Kaltblüter 0,6 pCt.

II. Mazerations- und Isolationsflüssigkeiten.

Sie dienen dazu, den Zusammenhang des Gewebes zu lockern. Um für Zupfpräparate das Gewebe geeigneter zu machen, bringt man dasselbe in ein Uhrschälchen und bedeckt es mit ganz wenig der Isolationsflüssigkeit. Hierzu eignet sich:

a) Ranvierscher $^1/_3$ Alkohol, hergestellt durch Vermischen von 1 Teil 96 proz. Spiritus und 2 Teilen Wasser. Die Präparate verweilen darin 24 Stunden oder länger.

b) Müllersche Flüssigkeit (s. Kap. VIII, a), namentlich zur Isolation für Teile des Nervensystems geeignet, die 2—3 Tage darin verweilen.

Andere Mazerationsmethoden s. unter Retina, Kap. XIII.

III. Aufhellungflüssigkeiten.

a) Glyzerin. Es kann nicht nur als Aufhellungsmittel, namentlich bei Pigmentuntersuchungen, dienen, sondern auch als Konservierungsflüssigkeit (s. Einschliessen, Kap. VIII), da es nicht verdunstet und sich chemisch nicht verändert. Es wird gewöhnlich unverdünnt angewendet.

b) Kali aceticum, in gesättigter wässeriger Lösung (50 pCt.). Anwendung ähnlich wie Glyzerin, hat vor demselben den Vorteil, dass es nicht so stark aufhellt; daher ist es für die Untersuchung frischer Schnitte geeigneter.

IV. Differenzierungsflüssigkeiten.

a) Essigsäure, hergestellt durch Verdünnen von Eisessig mit Wasser (1—2—5 pCt.). Sie lässt die Umgrenzung der Kerne deutlicher hervortreten, dadurch, dass dieselben zum Schrumpfen gebracht werden, und sie bringt das Bindegewebe zur Quellung und macht es dadurch durchsichtiger. Elastische Fasern werden nicht angegriffen, treten daher in dem durchsichtigen Bindegewebe deutlicher hervor. Auch Mikrokokken und Fetttröpfchen bleiben unbeeinflusst, dagegen werden die Eiweiss-

körnchen, die sich im Zellprotoplasma bei der trüben Schwellung bilden, unsichtbar. Kalk in verkalkten Geweben wird gelöst.

b) Fuchsinessigsäure, 2 proz. Essigsäure mit Zusatz von so viel Fuchsin, dass die Farbe eine gesättigt rote wird. Dieselbe ist der Essigsäure noch vorzuziehen, weil sie die Kerne zu gleicher Zeit rot färbt.

V. Auflösungsflüssigkeiten.

a) Salzsäure, 3—5 pCt. Dient zum Erkennen von Verkalkungen. Sie löst den phosphorsauren Kalk auf; die vorher dunklen Partien werden dadurch hell. Die Lösung des kohlensauren Kalkes geschieht unter Bildung von Kohlensäure-Bläschen.

b) Kalilauge, 1—3 pCt., löst die meisten Gewebe auf. Es widerstehen nur das elastische Gewebe, Fett, Pigment, Bakterien, Amyloidsubstanz.

c) Kali- oder Natronlauge, 33 proz., zerstört die zelligen Gewebsbestandteile nicht, löst dagegen die Kittsubstanz, welche dieselben verbindet, schon in wenigen Minuten. Dient zur Isolation von Geschwulstzellen, Drüsenknäulen u. s. w.

d) Antiformin, 10 proz. Hypochloritlösung (Eau de Javelle bezw. Eau de Labarrague) mit 5—10 pCt. Natriumhydrat (vergl. Tuberkelbazillen, Kap. XX).

VI. Farbflüssigkeiten.

Hierzu eignen sich Löfflers Methylenblau, Methylgrün oder auch Fuchsinessigsäure. Ferner zur Fettfärbung Osmiumsäure in 1 pCt. wässeriger Lösung (die Fetttröpfchen werden braun bis schwarz).

VII. Vitale und supravitale Granulafärbung.

Zum Unterschied der gewöhnlichen Färbung, bei denen die abgestorbenen Zellen tingiert werden, handelt es sich bei dieser Methode um eine Färbung der lebenden Zellsubstanz. Es gelingt an geeigneten Objekten, eine dichte Menge distinkt gefärbter Körnchen oder Granula sichtbar zu machen, die den Zellleib durchsetzen, während der Kern meist ungefärbt und völlig unsichtbar bleibt. Als ein vorzügliches Objekt für derartige Studien ist die Cornea zu betrachten. Als Farbstoffe eignen sich das vitale, rektifizierte Methylenblau von Ehrlich, das Neutralrot, das Indigkarmin und das Bismarckbraun. Man bringt den Farbstoff

in Substanz oder Lösung 1. in den Konjunktivalsack, 2. spritzt ihn in die Vorderkammer, 3. legt den enukleierten Bulbus in die Farblösung, 4. verleibt denselben dem Tier subkutan ein (vergl. Cornea, Kap. XI).

Achtes Kapitel.

Die Herstellung des fixierten Präparates.

Im Gegensatz zu der einfachen Herstellung des frischen Präparates hat man es bei dem fixierten Präparat mit einer grossen Reihe von Manipulationen zu tun, die an dem Präparat vorgenommen werden müssen, bevor es endgültig für die mikroskopische Untersuchung fertig ist.

Diese Manipulationen sind: 1. Fixieren und Härten; 2. Auswaschen; (3. eventuell: Entkalken); 4. Nachhärten; 5. Aufschneiden des Bulbus; 6. Einbetten; 7. Schneiden; 8. Färben der Schnitte; 9. Entwässern; 10. Aufhellen; 11. Einschliessen.

I. Fixieren und Härten.

Das Fixieren hat den Zweck, die Struktur der Gewebselemente in dem Zustand, den sie während des Lebens oder im Moment des Absterbens hatten, zu erhalten und weiteren postmortalen Veränderungen vorzubeugen. Zu gleicher Zeit werden dadurch die Zellelemente den Operationen gegenüber resistent, die später mit ihnen vorgenommen werden müssen.

Das Härten hat den Zweck, die Konsistenz des Präparates zu erhöhen, die es erst ermöglicht, genügend dünne Schnitte herzustellen. Sowohl beim Fixieren, als beim Härten handelt es sich fast immer um eine Abtötung, Ausfällung oder Gerinnung der lebendigen Substanz, und dadurch können Gewebsstrukturen vorgetäuscht werden, was man sich immer vor Augen halten muss. Da die meisten sogenannten Fixationsmittel zu gleicher Zeit „fixieren" und „härten", so ist eine Zweiteilung dieser beiden Begriffe praktisch nicht durchzuführen. Sie konnte überhaupt nur entstehen zu einer Zeit, wo die „Müllersche Flüssigkeit" mit ihrem Gehalt an Kal. bichrom. als einziges Konservierungsmittel dominierte, die infolge ihrer Eigenschaft das Eiweiss nicht zu fällen, auch die Organe weich lässt und eine nachfolgende Härtung — in Alkohol — erfordert.

Da der Ophthalmologe in den meisten Fällen in der glücklichen Lage ist, sein Untersuchungsmaterial frisch zu erhalten, können

seine Präparate auch Anspruch darauf erheben, dass die Zell- und Gewebsstrukturen annähernd in demselben Zustande, wie sie während des Lebens bestanden, fixiert werden. Andererseits hat der Ophthalmologe aber mit der Schwierigkeit zu kämpfen, ein so grosses Objekt, wie es der Bulbus ist, in allen seinen Teilen gleichmässig gut zu fixieren. Durch die Fixierung und Weiterbehandlung des Auges in toto entsteht auch der Nachteil, dass die topographischen Verhältnisse, die im frisch eröffneten Augapfel mit Leichtigkeit bestimmt werden (cf. S. 19), erst durch Kombination verschiedener Durchschnittsebenen festgestellt werden können; ausserdem wird eine zweite Fehlerquelle durch die Möglichkeit gegeben, trotz einer grossen Anzahl von Durchschnitten eine wichtige krankhafte Stelle nicht zu treffen; auch Fremdkörper können in erhärteten Augen der Untersuchung leicht entgehen. Jedenfalls darf man sich bei der Beschreibung des makroskopischen Befundes erhärteter Augen nicht mit derjenigen einer einzigen Durchschnittsebene, wie es nicht selten geschieht, begnügen.

Anwendung der Fixierungsmittel.

Es ist eine allgemein bekannte Regel, dass zum Fixieren die Objekte möglichst klein sein sollen, weil nur bei dünnen Objekten ein vollständiges Eindringen der Fixierungsflüssigkeit möglich ist. Bei kleinerem Bulbi (Salamander, Maus) ist diese Bedingung auch erfüllt, und können wir derartige Augen ohne weiteres in die Fixationsflüssigkeit bringen; bei grösseren Bulbi müssen wir aber das Eindringen der Fixierungsflüssigkeit zu erleichtern suchen, namentlich, wenn es uns darauf ankommt, ein gutes Retinapräparat zu erhalten. Es ist nun mehrfach die Frage erörtert worden, ob man zu diesem Zwecke den Bulbus vor der Fixierung anschneiden soll oder nicht. Einige Autoren behaupten, diese Manipulation nütze nicht nur nichts, sondern bringe sogar der Form des Bulbus Schaden; sie sei deshalb überflüssig, weil die klinische Erfahrung und das Experiment zeige, dass chemische Stoffe wie Atropin, und Fixationsflüssigkeiten wie die M ü l l e r sche Flüssigkeit durch die Augenhäute sehr schnell bis auf den Glaskörper hindurchdringen (G r e e f f). Diese Einwände sind nur wenig stichhaltig: denn 1. ist es nicht angängig, die Resorptionsverhältnisse des lebenden Auges ohne weiteres auf das enukleierte Auge zu übertragen; 2. diffundiert die Atropinlösung durch die Cornea nur bis in die Vorderkammer. Von einem Eindringen in die hinteren Augenhäute ist nichts bekannt; 3. ist es

nicht angängig, eine Atropinlösung mit einer Fixierungsflüssigkeit zu vergleichen. Letztere wirkt, wie schon auseinandergesetzt, durch Eiweissfällung, was bekanntlich beim Atropin nicht der Fall ist; 4. ist es zwar richtig, dass die Müller'sche Flüssigkeit die Sklera sehr schnell durchdringt, aber wir wissen auch, dass diese Flüssigkeit ihre Rolle als Fixationsmittel längst ausgespielt hat, weil sie die Retina sehr schlecht konserviert (Kallius); 5. ist es im höchsten Grade wahrscheinlich, dass die Permeabilität der Augenhäute mit der beginnenden Fixierung guter Fixationsmittel schwindet oder doch erheblich abnimmt (Zürn).

Während also einerseits kein stichhaltiger Einwand gegen das Anschneiden des Bulbus vor der Fixation besteht, ist andererseits in Erwägung zu ziehen, dass alle guten Fixationsflüssigkeiten verhältnismässig langsam in die Sklera eindringen und deshalb die so leicht sich postmortal verändernde Retina auch erst spät erreichen und fixieren. Ausserdem pflegt der Glaskörper selbst beim sorgfältigsten Fixieren etwas zu schrumpfen, wodurch eine artefizielle Netzhautablösung gar zu leicht eintritt.

Aus diesen Gründen tut man gut, das Eindringen der Fixationsflüssigkeit in das Augeninnere auf jede Weise zu erleichtern. Man erreicht dies einerseits dadurch, dass man den Bulbus, der vorher sehr sorgfältig von den umgebenden Muskeln und Bindegewebe gereinigt worden, durch einen 6—8 mm langen Schnitt am Äquator mittelst eines scharfen Rasiermessers eröffnet, jedoch so, dass womöglich nur die Sklera durchtrennt wird, jedenfalls kein Glaskörper abfliesst. Eine andere Methode besteht darin, dass man mit einer Pravaz'schen Spritze das Fixierungsmittel in den Glaskörper einspritzt. Man achte darauf, dass die Metallkanüle sehr scharf ist, und dass sie durch sämtliche Augenhäute hindurch bis in den Glaskörper durchgestossen wird, damit keine Netzhautablösung entsteht. Die Fixationsflüssigkeit wird so lange injiziert, bis sich eine leichte Drucktrübung der Cornea einstellt. Dieselbe verschwindet sehr rasch wieder.

Um eine möglichst rasche Fixierung des womöglich noch lebenswarmen Gewebes zu erzielen, kann man die Fixationsflüssigkeit auch in den Glaskörper des noch in der Orbita befindlichen Augapfels injizieren (cf. S. 3), eventuell lässt man vorher das Kammerwasser ab. Noch besser verfährt man, indem man in die Aorta des frisch getöteten Tieres die auf 39° erwärmte Fixationsflüssigkeit (Sublimat, Formol) injiziert. Das Auge wird dann enukleiert, die Cornea entfernt mit Ausnahme eines kleinen

Stückes, das man oben zum Zwecke der nachträglichen Orientierung stehen lässt, ebenso auch die Linse und der Glaskörper, wonach man das Auge noch auf einige Stunden in die Fixationsflüssigkeit bringt (s. auch unter Retina).

Will man nicht das ganze Auge bearbeiten, sondern nur einzelne Teile, wie Iris, Retina, Augenmuskeln, Augenlider etc., so präpariere man dieselben, eventuell nach Eröffnung des Bulbus, sorgfältig frei (vergl. die betreffenden Abschnitte im speziellen Teil), befestige sie in möglichst ausgestrecktem Zustande mit Stecknadeln, Igelstacheln oder hölzernen Schusternägeln auf einer Korkscheibe, einem Stückchen weichen Holzes (denen beiden vorher durch längeres Liegen in Alkohol die Gerbsäure entzogen worden ist!), oder noch besser auf einem Scheibchen gehärteter Leber, und bringe sie so in die Fixierungsflüssigkeit, das Präparat nach unten.

Aus dem Gesagten geht hervor, dass es eine schematische Methode für die Bearbeitung des Auges nicht geben kann. Für kein anderes Organ ist ein Individualisieren so unbedingt nötig, wie gerade beim Bulbus.

Um die Einwirkung der Fixierungsflüssigkeit von allen Seiten her zu ermöglichen, ist es nötig, den Bulbus auf Watte, Glaswolle oder Fliesspapier zu lagern.

Mit der zum Fixieren verwandten Flüssigkeit sei man nicht zu sparsam, man nehme mindestens das 4—6 fache des Volumens des Bulbus. Trübt sich die Flüssigkeit, so muss sie gewechselt werden, und zwar so lange, bis sich keine Trübung mehr zeigt.

Die Dauer der Einwirkung der Fixationsflüssigkeit richtet sich nach der Grösse des Objektes. Für den Bulbus ist sie bei den einzelnen Flüssigkeiten angegeben. Man beachte, dass es nur auf die Dicke des Präparates ankommt, Länge und Breite sind nebensächlich. Die Retina ist eine sehr dünne Membran und wird deshalb sehr schnell fixiert; wie gross das Retinastückchen ist, kommt dabei nicht in Betracht. In manchen Fällen ist es erwünscht, die Fixierung durch höhere Temperaturen, z. B. im Brutschrank, zu beschleunigen.

Fixierungsmittel.

Gute Fixierungsmittel sind namentlich die Eiweissfäller, welche nicht gleich eine totale Gerinnung bewirken, sondern die Zellen in den tieferen Schichten zwar rasch abtöten, aber dann erst totale Fällung nach und nach eintreten lassen. Hierdurch werden Schrumpfungen möglichst vermieden. Auf diesen Eigen-

schaften beruhen die Hauptvorteile der aus mehreren Flüssigkeiten zusammengesetzten Fixierungsgemische und speziell der mit Essigsäure kombinierten, da letztere das meist alkalische Gewebe ansäuert und dadurch eine gewissermassen vorbereitende teilweise Fällung des Eiweisses bewirkt, während die totale dann erst durch das Härtungsmittel selbst erreicht wird. Ein gutes Fixierungsmittel muss ferner die Eigenschaft der leichten Diffusionsfähigkeit besitzen, damit es ebenso schnell zu den tiefen, wie zu den oberflächlichen Zellen gelangen kann (Fischer, v. Tellyesnicky).

Eine Isotonie kommt für die Fixation nicht in Betracht, da es sich bei dem zu fixierenden Objekt um albuminöse, bezw. kolloide Substanzen handelt, welche den Gesetzen des osmotischen Druckes, wie sie für aufeinander wirkende Salzlösungen gelten, nicht unterworfen sind (Herzog).

Bei dem zusammengesetzten Bau des Auges kann es kein ideales Fixierungsmittel geben, das sich für alle Gewebe desselben gleich gut eignet. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit einer genauen Kenntnis der Indikationen und Eigenschaften der verschiedenen Mittel.

1. Müllersche Augenflüssigkeit.

Die „Müllersche Augenflüssigkeit", für gewöhnlich nur „Müllersche Flüssigkeit" genannt, ist von H. Müller zur Erhärtung der Retina empfohlen worden. Sie besteht aus:

Doppeltchromsaur. Kali	2,5 g
Schwefelsaur. Natron	1,0 „
Destill. Wasser	100,0 „

Die Flüssigkeit muss in reichlicher Menge genommen werden und ist so oft täglich zu wechseln, bis sie sich nicht mehr trübt. Die Bulbi müssen mindestens 6 Wochen lang bei Zimmertemperatur in dieser Flüssigkeit bleiben, bis sie gehörig fixiert sind. Schneller kommt man zum Ziel, wenn man die in sehr reichlicher Flüssigkeit enthaltenen Bulbi im Brütofen einer Wärme von 36—40° C. aussetzt und die Flüssigkeit täglich wechselt. In ca. 14 Tagen ist dann die Fixierung vollendet.

Man tut gut, das Präparat mit der Fixationsflüssigkeit ins Dunkle zu stellen. Auf diese Weise kann man die Bildung von Niederschlägen in dem Alkohol, in welchem Präparate aus Chromsäure oder deren Salze übertragen werden, vermeiden. (H. Virchow.)

Um Pilz- und Schimmelbildung (Penicillium glaucum, Aspergillus glaucus) hintanzuhalten, empfiehlt es sich, der Flüssigkeit etwas Kampfer, Karbolsäure oder Sublimat (1 g auf 2 Liter) zuzusetzen.

Nach vollendeter Fixation wird der Bulbus 24 Stunden lang in fliessendem Wasser ausgewaschen und dann in Alkohol von steigender Konzentration gehärtet (cf. Entwässern, Kap. VIII).

Zur Färbung eignen sich Hämatoxylin-Eosin und Karmin.

Die Müller sche Lösung verdient mit Unrecht den grossen Ruf, den sie bei den Ophthalmologen geniesst. Wenn sie auch früher fast die einzige gebräuchliche Fixationsflüssigkeit für den Bulbus war, so besitzen wir doch jetzt so viele andere Fixierungsmittel (Sublimat, Picrinsäure, Formalin etc.), die weit mehr leisten, als die Müller sche Flüssigkeit, dass es zu hoffen ist, dass dieselbe bald ihre dominierende Stellung verlieren wird.

Auch für die Weigert sche Markscheidenfärbung, die früher nur nach Fixation mit Müller scher Flüssigkeis möglich war, ist dieselbe nicht mehr so unbedingt nötig, da die doppelchromsauren Salze für sich allein mehr und besseres leisten (Weigert).

Die Müller sche Flüssigkeit bewirkt eine erhebliche Quellung aller Gewebe des Auges. Die Retina zeigt stets Faltenbildung, und dadurch bedingt eine Verlagerung, Gestalts- und Grössenveränderung in den einzelnen Teilen (Henle, M. Schultze). Die Zapfen in der Mitte der Fovea werden in unnatürlicher Weise in die Länge gezogen (Dimmer). Die Chorioidea löst sich zum Teil von der Sklera, so dass ein künstlicher Suprachorioidealraum entsteht (v. Hippel). Ausser diesen speziellen Veränderungen am Auge sind noch eine Reihe von weiteren Nachteilen zu beachten: da das Chromsalz die Chromatinfäden zerstört, eignet sich die Müller sche Flüssigkeit nicht zum Studium von Kernstrukturen. Bulbi, die darin fixiert worden sind, können auch nicht auf Bakterien untersucht werden, da die geringe antiseptische Kraft der Lösung eine postmortale Weiterentwicklung von Bakterien ermöglicht. Ausserdem wird die Färbbarkeit der meisten Bakterien, namentlich aber der Tuberkelbazillen, im höchsten Grade beeinträchtigt. Und schliesslich gelingt die Perl sche Eisenreaktion auch nur selten. Wir verwenden die Müller sche Flüssigkeit jetzt nur noch in Kombination mit Salpetersäure oder mit Formol.

2. Tellyesniczkysche Lösung.

bestehend aus einer 3 proz. Kaliumbichromatlösung, der man vor dem Gebrauche auf je 100 Teile 5 ccm Eisessig zusetzt, hat sich als Fixationsflüssigkeit für embryonales Gewebe und auch für das Auge vorzüglich bewährt.

3. Sublimat.

Eine in der Wärme gesättigte (7,5 proz.) Lösung von Sublimat in 0,5 proz. Kochsalzlösung ist ein vorzügliches Fixationsmittel für Kernteilungsfiguren. Die Stücke, die nicht zu dick sein dürfen, verbleiben darin 1—2, höchstens bis 6 Stunden. Für die Fixation des Bulbus ist zu empfehlen eine Mischung von

Sublimat, konzentr. Lösung
Alkohol 95 pCt. $\overline{aa}$
mit Zusatz von 1 pCt. Eisessig

Einwirkung 24 Stunden lang, dann sehr gründliches Auswaschen (24 Stunden) in fliessendem Wasser und Übertragen in Alkohol 70 pCt., dem man soviel Jodtinktur zugesetzt hat, dass derselbe eine weinrote Färbung erhält. Das Jod entfernt durch Bildung von Quecksilberjodid das überschüssige Sublimat, und der Alkohol entfärbt sich. Der Jodalkohol ist so häufig zu wechseln, bis keine Entfärbung mehr eintritt. Die Auflösung der Sublimatkristalle wird im Brutofen beschleunigt, aber trotz dieser Behandlung mit Jod gelingt es nicht, das Sublimat völlig aus dem Gewebe zu entfernen, daher halten sich gewisse Färbungen (Toloidinblau (N i s s l - Präparate), Kongofarbstoffe, Benzopurpurine) so schlecht. Nur durch Natriumthiosulfat kann man die jodierten Sublimatpräparate dejodieren. Man fertige eine wässerige Stammlösung von 2,5 pCt. an und verdünne sie beim Gebrauche 10 mal mit Wasser. Die jodgelben Schnitte werden durch dieses Mittel sofort gebleicht, und in wenigen Minuten ist der Prozess vollendet (H e i d e n - h a i n).

Die Sublimatpräparate färben sich gut, wenn sie gründlich ausgewaschen sind. Als Färbungsmittel empfehlen sich eine Doppelfärbung mit Hämatoxylin und Eosin, das B i o n d i - H e i d e n h a i n sche Gemisch und H e i d e n h a i n s Eisenalaunhämatoxylinlösung.

4. Inouyesche Mischung.

ist eine 1½ proz. mit Sublimat gesättigte Rohrzuckerlösung. Sie verursacht nur sehr geringe Schrumpfung des Bulbus. Noch

besser scheint (nach Prokopenko) die Stoelznersche Lösung (4½ proz. mit Sublimat gesättigte Rohrzuckerlösung) zu sein.

5. Die Zenkersche Flüssigkeit.

bestehend aus einer Mischung von Sublimat 5,0, Kal. bichrom. 2,5, Natr. sulf. 1,0, Aq. dest. 100,0, der man kurz vor dem Gebrauch noch Acid. acet. glac. 5,0 hinzusetzt, dringt leicht in das Gewebe ein und fixiert Kern- und Protoplasmastrukturen gleich gut. Sie ist eines der vorzüglichsten Fixierungsmittel für den Bulbus, namentlich in der Modifikation von Birch-Hirschfeld. Die natürliche Form der Chorioidea bleibt erhalten.

Sublimat	3,0
Kal. bichrom.	2,5
Natr. sulfur.	1,0
Aq. dest.	100,0

Vor Gebrauch erwärmen im Brutschrank und zusetzen:

Acid. acet. glac.	3,0
Formalin (40 pCt.)	0,5

Fixierung 24 Stunden. Auswässern 24—48 Stunden. Nachhärten in Jod-Alkohol (vergl. sub. 3) von steigender Konzentration. Färbung mit der Weigertschen Modifikation der van Gieson Methode.

6. Sublimat-Pikrinsäure.

Gleiche Teile gesättigter wässriger Sublimatlösung (die Auflösung hat in 5 proz. Kochsalzlösung zu geschehen) und gesättigter wässriger Pikrinsäurelösung werden gemischt. Zu je 100 ccm der Mischung setzt man zweckmässig 5 ccm Eisessig oder Ameisensäure hinzu. Man kann die Lösung auch noch etwas verdünnen (Rabl):

Pikrinsäurelösung conc.	100,0
Sublimatlösung conc.	100,0
Aq. dest.	200,0
Eisessig	5,0

In dieser Lösung bleibt ein Bulbus 24 Stunden, wird dann kurz mit Wasser abgespült (ein längeres Auswaschen in fliessendem Wasser wirkt zerstörend auf die mit Pikrinsäure behandelten Teile ein und ist daher zu vermeiden) und in Alkohol 70 pCt. mit Jodzusatz übertragen, um das Sublimat zu entfernen. Nachdem dieses geschehen und nachdem das Jod durch 80 proz. Spiritus ausgezogen ist, kommt der Bulbus nicht früher in 95 proz.

Spiritus, bis auch die Pikrinsäure ausgezogen ist. Man bedient sich hierzu der von Jelinek angegebenen Methode, indem man dem Spiritus einige Tropfen einer kalt gesättigten wässrigen Lösung von Lithion carbonicum zusetzt. Es entsteht ein allmählich gelbwerdender zarter Niederschlag, der sich langsam löst. Man setzt so lange das Lithion zu, bis der Niederschlag sich nicht mehr löst und auch eine Gelbfärbung des Alkohols nicht mehr auftritt. Der Alkohol muss häufig gewechselt werden. — Diese Flüssigkeit eignet sich nicht für kalkhaltige Bulbi.

7. Salpetersäure

in 3 proz. oder 10 proz. Lösung (Michaelis, Altmann, Chievitz, Dimmer) ist ein vorzügliches Fixierungsmittel gerade für die schwierigsten Objekte der Histologie, besonders aber für die Retina. „Durch diese dünne Salpetersäurelösung erhält man die Struktur eines protoplasmatischen Objektes am zuverlässigsten. Sie fixiert und scheidet die eigentlichen Strukturelemente von den sie umgebenden gelösten Eiweisskörper in scharfer Form ab, und dieses verdient insbesondere gegenüber den mehr ausgleichenden Wirkungen der Überosmiumsäure hervorgehoben zu werden. Sie führt den Objekten keinen fremdartigen Farbstoff zu und kann selbst durch Alkohol leicht ausgewaschen werden. Zu gleicher Zeit entfernt sie in schonendster Weise die Kalksalze. Die nachträglichen Färbungen gelingen überall leicht und gut.“ (Altmann.)

Die Fixierung mit Salpetersäure erweist sich auch neben dem Formol als die beste Methode für die Macula lutea, indem diese Säure das gelbe Pigment unverändert lässt; sie eignet sich aber nicht für kalkhaltige Bulbi.

Die 3 proz. Salpetersäure wird am bequemsten mittelst des Aräometers an einer entsprechend zu verdünnenden stärkeren Lösung bestimmt. (Acidum nitricum purissimum enthält 70 pCt. Säuregehalt und hat ein spezifisches Gewicht von 1,40). Das spezifische Gewicht der eigentlichen Lösung beträgt dann etwa 1,02. Ein Froschauge bedarf zur Fixierung mindestens 6 Stunden in ca. 50 ccm Flüssigkeit. Der Bulbus kommt aus der Säure dann direkt in absoluten Alkohol, und wird erst hier die Fixierung der Elemente vollendet. Auswaschen in fliessendem Wasser und Anwendung schwächeren Alkohols ist zu vermeiden, da dadurch eine Zerstörung der Retinalelemente herbeigeführt wird.

Eine Erwärmung der Säure ist schädlich, eine Abkühlung der Lösung unter die gewöhnliche Temperatur eher nützlich, doch kommt man mit der gewöhnlichen Temperatur aus.

Da es manchmal vorkommt, dass die durch reine 3 proz. Salpetersäure ganz faltenlos fixierte Retina bei der Nachhärtung in Alkohol sich in Falten legt, ist eine Kombination von Salpetersäure und Müller scher Flüssigkeit empfohlen worden. Durch die letztere wird die bei der Salpetersäurefixierung entstandene Weichheit und Aufquellung der Gewebe wieder aufgehoben und ein grösserer Grad von Härtung erreicht. Die Netzhäute werden dabei allerdings gewöhnlich sehr brüchig, so dass es sich für grössere Bulbi empfiehlt, nur kleine, mit dem Locheisen ausgestanzte Retinastückchen zu bearbeiten.

Nach Angelucci kommt eine Froschnetzhaut auf ½—3 Stunden in 3 proz. Salpetersäure, dann auf 10 Tage in Müller-sche Flüssigkeit, schliesslich auswaschen und härten in Alkohol.

Am meisten empfehlenswert ist das Verfahren nach Benda:

1. 10 proz. Salpetersäure 12—24 Stunden;
2. Müller sche Flüssigkeit, Wasser aa 24 Stunden;
3. Müller sche Flüssigkeit;
4. Auswaschen 24 Stunden;
5. Alkohol von steigender Konzentration, Färbung nach Heidenhain oder Benda.

8. Perényische Flüssigkeit.

Acid. nitr. 10 proz.	40,0
Chromsäure 0,5 proz.	30,0
Alkohol 95 proz.	30,0

Von Howe als Fixierungsmittel für das Auge empfohlen. Zur Fixierung des Menschenauges ist eine 24 stündige Einwirkung nötig; dann Alkohol in steigernder Konzentration. Ein Auswaschen mit Wasser muss streng vermieden werden, weil die Salpetersäure eine Nachbehandlung in Wasser nicht verträgt. Alle Teile des Auges zeigen bei dieser Behandlung den schönsten Erhaltungszustand, auch die Stäbchen und Zapfen. Gutes Fixationsmittel für das Arthropodenauge, eignet sich aber nicht für kalkhaltige Bulbi.

9. Osmiumsäure.

Die Überosmiumsäure OsO_4, in der Histologie gewöhnlich Osmiumsäure genannt, wurde von M. Schultze

und Rudneff in die Technik eingeführt. Dieselbe ist in zugeschmolzenen $^1/_{10}$, $^1/_4$, $^1/_2$, 1 g-haltigen Glasröhrchen käuflich (teuer!). Die Osmiumsäure ist sehr giftig, und die Dämpfe derselben greifen ausserordentlich die Schleimhäute an.

Schmorl präzisiert die Regeln, die bei dem Gebrauche osmiumsäurehaltiger Lösungen zu beachten sind, folgendermassen:

1. Die Lösungen sind mit frisch ausgekochten destilliertem Wasser herzustellen und in einer mit Glasstöpsel verschlossenen Flasche unter Abschluss des Lichtes aufzubewahren. Korkstöpsel sind wegen der in ihnen enthaltenen Gerbsäure zu vermeiden. Die Gemische sind nicht lange haltbar. Man tut gut, sich nur 50 ccm einer 2 proz. Lösung als Stammflüssigkeit, aus der die gewünschten geringeren Konzentrationen mit Leichtigkeit sich herstellen lassen, vorrätig zu halten.

2. Da die Osmiumsäure nur sehr schwer und wenig tief in die Gewebe eindringt, müssen, um eine vollständige Durchtränkung zu erzielen, nur ganz dünne Gewebsstücke (1—2 mm) verwendet und dieselben, um der Säure von allen Seiten Zutritt zu gewähren, öfter mit Glasnadeln umgewendet werden.

3. Die Fixierung ist im Dunkeln vorzunehmen.

4. Nach der Fixierung ist sehr gründlich 12—24 Stunden in fliessendem Wasser auszuwaschen. Bei ungenügender Wässerung färbt sich der zum Nachfärben benutzte Alkohol durch Niederschläge reduzierter Osmiumsäure rasch schwarz, und es können dabei auch schwarze Niederschläge in den zu härtenden Objekten auftreten, welche zu Trugbildern Veranlassung zu geben geeignet sind.

5. Bei der Einbettung osmierter Stücke müssen alle Substanzen vermieden werden, welche das durch Osmium geschwärzte Fett zu lösen imstande sind. Da Äther zu diesen Substanzen gehört, ist Celloidineinbettung wenig zu empfehlen. Bei der Paraffineinbettung darf Xylol oder Terpentinöl nicht zur Verwendung kommen; man muss sich vielmehr des Chloroforms oder des Nelkenöls bedienen. Paraffinschnitte sind mit Glyzerineiweiss aufzukleben.

6. Das zum Aufkleben der Schnitte benutzte ätherische Öl muss möglichst gründlich entfernt werden. Zum Einschluss ist möglichst zähflüssiger, wenig Xylol enthaltender Kanadabalsam zu benutzen, den man durch Erwärmen erweicht hat.

Zur Fixierung gelangt die Überosmiumsäure in folgenden Formen zur Anwendung:

a) Osmiumsäure in Dampfform.

von Ranvier zur Untersuchung der Retina empfohlen. Man bringt auf den Boden einer kleinen Flasche eine nur wenige Millimeter hohe Schicht einer 1 proz. Osmiumlösung und setzt das Auge eines Triton cristatus, (das dem Anfänger besonders zur Untersuchung der Retina zu empfehlen ist) den Dämpfen derselben aus, indem man es mittels einer Nadel an der unteren Fläche des Korkes befestigt. Grössere Bulbi müssen vor der Räucherung eröffnet und der Glaskörper und Retina von innen geräuchert werden. Nach ¼—½ Stunde ist die Retina genügend fixiert, das Auge wird alsdann in Drittelalkohol übertragen und am Äquator mit einer feinen Schere halbiert. Nach Verlauf von einigen Stunden (3—4) legt man die hintere Augenhälfte auf mehrere Stunden in eine 1 proz. Pikrokarminlösung und bringt sie dann zur definitiven Fixation der Elemente auf 12 Stunden in die 1 proz. Osmiumsäurelösung, worauf man mit Wasser auswäscht, mit Alkohol behandelt und schliesslich in Paraffin einschliesst.

Methode nach Johnson. Der Bulbus wird in toto an einem Faden in ein seiner Grösse entsprechendes Reagenzglas, das am Boden 2 pCt. Osmiumsäure enthält, gebracht, das Glas zugekorkt und nun über der Flamme erwärmt, bis reichlich Dämpfe aufsteigen. Die Räucherung wird fortgesetzt, bis derselbe geschwärzt ist. Dann kommt er in das Johnsonsche Gemisch (2½ proz. Lösung von Kaliumbichromat 70, 2 proz. Lösung von Osmiumsäure 10, 1 proz. Lösung von Platinchlorid 15, Essig- oder Ameisensäure 5 Teile) für 2 Stunden und dann in reine Kaliumbichromatlösung. Mittelst dieses Verfahrens gelingt es, die Retina auch ohne Eröffnung des Bulbus zu fixieren. Noch besser dürfte nach den neueren Theorien über die Fixation eine gleichzeitige Räucherung mit Osmiumsäure- und Essigsäuredämpfen sein.

b) Reine Osmiumsäure.

Zur Untersuchung der Retina bediene man sich nach M. Schultze der Osmiumsäure in sehr verdünnten Lösungen, bis zu ¼ pCt. Die stärkeren von 1—¼ pCt. wirken schnell erhärtend, ohne jedoch interstitielle Gerinnungen zu erzeugen. Schon nach ½ stündiger Einwirkung derselben auf isolierte Retinastücke

lassen sich diese durch Zerzupfen nach der Richtung der Radialfasern in Blätter spalten, in welchen sich die Stäbchen- und Zapfenfasern erkennen, und, wenn sie nicht schon zu brüchig geworden sind, isolieren lassen, während die bindegewebigen Radialfasern noch wenig deutlich hervortreten. Solche Präparate können ohne Schaden bis 24 Stunden und länger in der Lösung liegen bleiben und werden dann behufs der Untersuchung in Wasser ausgewaschen, worin man sie auch tagelang aufbewahren kann. Jedoch schreitet dabei die Erhärtung auch des bindegewebigen Stützapparates allmählich voran, ebenso wie die dunkle Färbung im Wasser noch nach und nach zunimmt. Die schwarze Farbe, welche das Präparat schon in den ersten Minuten nach dem Einlegen anzunehmen beginnt, ist zuerst eine in allen Schichten ziemlich gleichmässige. Später stellen sich oft geringe Unterschiede der einzelnen Schichten heraus. Bei Fröschen und Fischen färben sich bei weitem am intensivsten die Aussenglieder der Stäbchen. Man erhält hier namentlich nach längerer Einwirkung Präparate, an welchen das Aussenglied tief schwarz, das Innenglied fast ungefärbt ist, und beide sich haarscharf abgrenzen. Bei Säugetieren tritt dieser Unterschied in der Färbung ebenfalls ein, jedoch nicht so konstant. Konzentrationsgrade von $^1/_5$ pCt. an abwärts wirken nicht mehr vorwiegend erhärtend, sondern zugleich mazerierend, so dass beim Zerzupfen die Brüchigkeit des Präparates in den Hintergrund tritt, die Fasern, namentlich die nervösen, dagegen auf längere Strecken erhalten werden können. Meist genügt ein Einlegen von 12—24 Stunden zur Erzielung der vollen Wirkung. Selten hat längeres Liegenlassen einen Vorteil, oft dagegen einen Nachteil. In den schwächeren Lösungen stellen sich auch an den feinsten Nervenfasern, wenn sie erhalten sind, Varikositäten ein. Ein Hauptvorteil der Überosmiumsäure besteht darin, dass die Elemente des bindegewebigen Stützapparates später erhärten als die nervösen; ein anderer ist der, dass die Säure mit Ausnahme ganz starker Lösungen keine körnigen Gerinnungen in den Elementen der Retina erzeugt.

Auch an ungeöffnet eingelegten Augen macht sich die Wirkung der Überosmiumsäure auf die Retina geltend, um so schneller, je dünner die Sklera ist. Augen vom Schaf oder Kalb zeigen ungeöffnet, in 1 proz. Lösung gebracht, bereits nach einigen Stunden eine schwarze Färbung der Retina und erhärtete Elementarteile, so dass sie jetzt der Einwirkung von Wasser widerstehen.

c) Flemmingsche Lösung.

Dieselbe besteht aus

1 proz.	Chromsäure	15,0
2 proz.	Osmiumsäure	4,0
	Eisessig	1,0

Die Flemmingsche Lösung dient zum Fixieren der Kernteilungsfiguren und des Fettes, sie erweist sich aber auch als ein ganz vorzügliches Fixationsmittel für die Retina. Sie erhält die Netzhaut vollständig in situ und fixiert sie gleichzeitig derart, dass das Relief der inneren Oberfläche nicht verändert wird, zwei Bedingungen, die namentlich erfüllt werden müssen, wenn es sich um Feststellung von Form und Grösse, z. B. der Macula lutea handelt (Dimmer). Die äussere Faserschicht (Zapfenfaserschicht, Neuroepithelschicht), in der sich bekanntlich am leichtesten Veränderungen zeigen, wird durch die Flemmingsche Lösung ebenso wie durch die 3 proz. Salpetersäure am besten in ihrer natürlichen Gestalt erhalten.

Die Flemmingsche Lösung ist auch das beste Mittel, um den faserigen Bau des Glaskörpers zu fixieren; dagegen eignet sie sich schlecht zur Untersuchung der Cornea, weil sie in diese nur langsam eindringt und sie deshalb deformiert.

Die Dauer der Einwirkung beträgt mindestens 24 Stunden für die Netzhaut. Auswaschen, Alkohol, Celloidin. Zur Färbung ist Safranin oder Bendas Eisenhämatoxylin zu empfehlen; Hämatoxylinfärbung gelingt nur schwer.

d) Hermannsche Lösung

besteht aus

1 proz.	Platinchloridlösung	15,0
2 proz.	Osmiumsäure	4,0
	Eisessig	1,0

Kleine Objekte werden 1—4 Tage in der Lösung fixiert, in fliessendem Wasser ausgewaschen und in Alkohol gehärtet. Vorzügliches Mittel zur Konservierung von Kern- und Protoplasmastrukturen.

Färbung mit Safranin, bezw. Gentianaviolett.

e) Altmannsche Lösung

zur Fixierung der Granula cf. Kap. X.

Die Lösung besteht aus

5 proz.	Kaliumbichromatlösung	
2 proz.	Osmiumsäure	aa

10. Merkelsche Flüssigkeit.

1. Platinchlorid 1 : 400
2. Chromsäure 1 : 400

Beide Lösungen werden zu gleichen Teilen mit einander gemischt und die betreffenden Bulbi in ca. 50 ccm der Mischung gelegt, wo sie 3—4 Tage verweilen.

11. Formaldehydum solutum.

Bezeichnung der deutschen Pharmakopoe für eine ungefähr 40 proz. Formaldehydlösung, die auch Formol oder Formalin genannt wird. Zur Verwendung gelangt gewöhnlich eine 10 proz. Lösung, seltener eine 4 proz., d. h. auf 100 Teile dest. Wasser kommen 10 resp. 4 Teile des käuflichen Formaldehydum solutum.

Anm. Einige Autoren pflegen anders zu rechnen, indem sie sich auf den Formaldehydgehalt der in Handel kommenden Flüssigkeit beziehen. Sie verstehen infolgedessen unter einer 4—10 proz. Lösung eine solche, die man durch Verdünnung der Stammflüssigkeit mit 10—4 Teilen Wassers erhält. In diesem Falle sollten sie aber wenigstens von einer 4—10 proz. Formaldehydlösung, und nicht von einer 4—10 proz. Formol- und Formalinlösung sprechen. Die Beziehung auf den Formaldehydgehalt scheint mir aber überhaupt überflüssig zu sein, denn 1. ist der Formaldehydgehalt des käuflichen Formols oder Formalins gar kein konstanter, sondern schwankt zwischen 40 und 50 pCt., und 2. liegt in den käuflichen Lösungen bei gewöhnlicher Temperatur nach Blum gar nicht das gasförmige Formaldehyd vor, sondern dessen Hydrat, das Methylenglykol. Man müsste also mindestens von einer Methylenglykollösung sprechen.

Das Formaldehydum solutum ist zurzeit das gebräuchlichste Fixierungs- und Härtungsmittel für das Auge. Seine Einwirkung auf das Gewebe beruht auf einer Methylenierung hauptsächlich der Eiweisskörper.

Es ist billig und handlich, konserviert das Blut gut und auch in anderen (alkoholischen) Flüssigkeiten lösliche Substanzen, wie Fett. Mit Formaldehyd behandelte Gewebe sind fast für alle anderen Fixierungs- und Härtungsmethoden nachträglich noch zugängig und gestatten fast alle Imprägnationen und Färbungen. Es dringt sehr schnell in das Gewebe ein und hebt die Entwicklung von Bakterien fast momentan auf. Die Cornea behält ihre Durchsichtigkeit und nimmt gleichzeitig an Konsistenz beträchtlich zu; dadurch wird das Auge in einer wunderbaren Naturtreue erhalten, während es in seiner Gewebsstruktur zudem vorzüglich fixiert wird (Blum).

Allen diesen Vorteilen gegenüber fallen einige Nachteile weniger ins Gewicht. So pflegt in der Hornhaut jugendlicher Individuen gewöhnlich eine geringe Schrumpfung einzutreten (v. Hippel). In jugendlichen Linsen tritt sogar eine sehr beträchtliche Formveränderung ein (Hess). Überhaupt eignet sich das Formol nicht gut für Linsenuntersuchungen, da dieselben bei längerem Verweilen darin zu hart werden (vergl. Kap. XIV). Dasselbe gilt auch für die Sklera. Reaktionen auf Amyloid lassen sich nach längerem Verweilen in Formol häufig nicht mehr recht erzielen. Für Bakterienfärbungen steht die Formolfixierung hinter der Alkoholbehandlung zurück. Für spezielle Dinge, z. B. für Mitosen sind andere Härtungsmittel vorzuziehen. Störend tritt manchmal bei Formalinhärtung ein feinkörniger, brauner Niederschlag auf, namentlich bei grösseren Blutungen. wenn durch beginnende Fäulnis blutige Imbibition eingetreten ist. Da dieser Niederschlag leicht mit Pigmenten verwechselt werden kann, so kann er bei Pigmentstudien sehr störend wirken. Man beseitigt ihn durch Behandlung der Stücke oder Schnitte mit dünner alkoholischer Ammoniaklösung oder noch besser mit Schwefelammonium.

Für das Zustandekommen einer guten Formolfixation ist der durch Polymerisierung entstehende Gehalt der käuflichen Lösung an Ameisensäure von grösstem Wert. Nach Ansicht der meisten Autoren schadet diese nichts, da ja saure Fixationsmittel besonders gut wirken. v. Tellyesnicky hält es sogar für vorteilhaft, zu je 100 ccm des Formols noch 1 ccm konzentrierte Essigsäure hinzuzusetzen.

Um den Bulbus zu fixieren, bringt man ihn auf 12—20 Stunden in die 10 proz. Lösung, nicht länger, da die Linse und Sklera sonst zu hart werden (s. o.), und sich schlecht schneiden lassen. Ein Auswässern ist nicht unbedingt nötig, aber doch vorzuziehen, da sich sonst manchmal Niederschläge bilden, jedenfalls schadet es nichts (bei Karminfärbung ist es sogar indiziert). Dann Nachhärten mit Alkohol.

12. Orthsche Mischung.

Orth empfiehlt eine Kombination des Formols mit Müllerscher Flüssigkeit. Das Formol-Müller: F. M. besteht aus:

Kal. bichrom.	2,5
Natr. sulf.	1,0
Formaldehyd. sol.	10,0
Aq. dest.	100,0

oder 100,0 Müllersche Flüssigkeit werden mit 10,0 unverdünnter Formalinlösung gemischt. Die Mischung eignet sich zur Fixation des Zentralnervensystems; sie bleibt ca. 4 Tage lang wirksam, beim Auftreten eines krystallinischen Niederschlages büsst sie ihre Wirksamkeit ein, und ist dann zu wechseln. Fixationsdauer kleiner Stücke 3—12 Stunden; für Bulbi ist besser ein F. M. im Verhältnis von 1:4. Fixationsdauer 2—3 Tage, dann gründlich auswaschen und färben (am besten mit Karmin). F. M. eignet sich auch zur Fixation der Linse, da es relativ wenig Kunstprodukte schafft (v. Hippel). Für Nisslfärbung empfiehlt sich das Altlandsche Gemisch: Sol. Müller 100, Formaldehyd sol. 5, Eisessig 1—2 ccm.

Man kann auch die Objekte zuerst in Formalin fixieren und dann mit Müllerscher Flüssigkeit nachbehandeln.

13. Alkohol absolutus.

Man stellt sich denselben aus dem gewöhnlichen 96 proz. Alkohol dadurch her, dass man denselben in einer Flasche mit einer grossen Quantität ausgeglühten schwefelsauren Kupferoxyd zusammenbringt. Zu diesem Zwecke glüht man das pulverisierte Kupfervitriol in einem Tiegel so lange, bis alles Krystallwasser ausgetrieben und aus den blauen Krystallen ein weisses Pulver geworden ist. Um das Auftreten freier Säure zu vermeiden, setzt man vor dem Glühen zweckmässig etwas gepulverte Kreide hinzu. Das weisse Pulver ist sehr hygroskopisch und entzieht dem Alkohol sämtliches Wasser, indem es sich dabei grünlich färbt. Dann muss es von neuem ausgeglüht oder durch neues ersetzt werden. Vor dem Gebrauch ist der auf diese Weise wasserfrei gemachte Alkohol zu filtrieren, damit keine Kupfervitriolpartikelchen mit dem Präparat in Berührung kommen können. Am besten wickelt man das Pulver in ein Stück Gaze und verschnürt dieses fest mit einem Bindfaden.

Der absolute Alkohol ist ein schlechtes Fixationsmittel für den Bulbus, dessen Glaskörper und dessen Wandungen er bedeutende Wassermengen entzieht — ein Vorgang, der starke Schrumpfung und Verunstaltung im Gefolge haben muss. Für die Erhaltung von feinen Strukturen ist er überhaupt meistens nicht geeignet, für Kerne, Fett, Nerven gänzlich unbrauchbar. Seine Anwendung auf das Auge beschränkt sich auf die Fälle, die auf Bakterien (Tuberkelbazillus, Lepra, Rotz etc.) untersucht werden sollen, da diese sich am besten nach Alkoholfixation färben lassen.

Im übrigen dient der Alkohol in steigender Konzentration zur Nachhärtung und Entwässerung anders fixierter Präparate (s. d.).

14. Carnoys Gemisch.

(100 proz. Alkohol 3, Eisessig 1 oder 100 proz. Alkohol 6, Chloroform 3, Eisessig 1) in seinen verschiedenen Modifikationen eignet sich nur für embryonale Augen mit ihrer geringen Ausbildung des Glaskörperraumes. Es fixiert Stücke von 1 ccm Grösse in ½—1 Stunde. Carlson benutzte für Nisslpräparate der Vogelretina ein Gemisch aus Alkohol 6, Chloroform 3, Eisessig 2. Cameron fixiert die Amphibienretina mit einem Gemisch aus 90 Teilen 70 proz. Alkohol, 3 Teilen Eisessig, 7 Teilen Formol 1 Woche lang, überträgt sie in 90 proz. Alkohol, entwässert und schliesst mittelst erwärmten Cedernöls in Paraffin ein.

15. Gilsonsches Gemisch.

Lösung von 20 g Sublimat in einer Mischung von 15 ccm Salpetersäure (1,45 spez. Gew.), 4 ccm Eisessig, 100 ccm 60 proz. Alkohol und 880 ccm Wasser. Wird vielfach zur Fixation der Arthropodenaugen gebraucht.

Anhang.

I. Das Arthropodenauge.

Zur Untersuchung desselben sind sehr viele Methoden angegeben worden. Nach Hesse bewährt sich am besten Sublimat-Essigsäure. Von dem in Paraffin eingebetteten Objekt muss man die Cuticula ablösen und dann noch einmal frisch einbetten.

Opilioneen. Man fixiert den abgeschnittenen Cephalothorax 3 Stunden oder länger, eventuell bei 45° in konz. Pikrinsäure und Alkohol absol. aa, dann 60 proz. Alkohol (Purcell).

Branchiopoden (Kiemenfüsser). Fixation mit Gilsonscher Flüssigkeit (Nowikoff).

Ostracoden (Muschelkrebse). Zur Fixation des Medianauges der verschieden Cyprisarten dienen konz. wässerige Sublimatlösung und das Gilsonsche Gemisch. Färbung mit Mallorys Dreifachfärbung und Boraxkarmin mit folgender Behandlung mit 1 proz. Osmiumsäure und Holzessig (Nowikoff).

Decapoden (Krebs, Hummer, Krabbe etc.). Fixation in der v. Rath-schen Lösung (Platinchlorid-Osmium-Essig-Pikrinsäure) mit nachfolgender Holzessigbehandlung. Entpigmentieren in 0,1 proz. Ätzkali. Zum Studium der Augenganglien dient die vitale Methylenblauinjektion (Parker) oder Fixation in einem erwärmten Gemisch von 3 Teilen konz. Sublimats und 1 Teil Perényi. Entfernung des Pigmentes in einer Lösung von je 3 Teilen Salzsäure und Salpetersäure in 150 Teilen Wasser bei 58° (Rosenstadt).

Arachnoideen (Spinnentiere). Zur Fixierung leisten Sublimatgemische, die Gilsonsche Flüssigkeit und die Flemmingsche Lösung, gleichgültig, ob heiss oder kalt angewandt, gute Dienste. Immer aber ist es unbedingt nötig, um leichtes Eindringen der Flüssigkeiten zu ermöglichen, den Ocellen tragenden Teil des Cephalothorax abzupräparieren. Um die Hindernisse, die die Cuticula dem Mikrotomieren in den Weg legt, nach Möglichkeit zu beseitigen, wird die Linse teils mit einem feinen Messer, teils mit dem Mikrotom entfernt, und dann nochmals eingebettet, oder aber, wenn es sich darum handelt, die Linsenstruktur und die Zusammenhänge der Linse mit dem Nachbargewebe zu studieren, das Gewebe vor dem Einbetten entsprechend erweicht. Dazu verwendet man ein Gemisch von 10 Teilen 95 proz. Alkohol und 1—1½ Teile Salpetersäure (von 63 pCt. an HNO_3) bei einer Einwirkung von 12—36 Stunden. Zum Bleichen der Schnitte dient Wasserstoffsuperoxyd oder ein Gemisch von 3 Teilen 95 proz. Alkohol und 1 Teil frischen Chlorwassers. Nach 1 stündigem Verweilen darin sind die Schnitte in der Regel gut gebleicht und können dann nach sorgfältigem Auswaschen in Wasser mit beliebiger Farbe tingiert werden. Von Färbungen eignet sich zu Übersichtsbildern Hämatoxylin-Eosin oder der Weigertsche Hämatoxylin-Eisenlack kombiniert mit Säurefuchsin. Zum Studium der feineren Strukturen ist Eisenhämatoxylin nach Bütschli oder Heidenhain oder die Schubergsche Dahliafärbung (Färben in einer Lösung von 0,3—1 proz. Dahlia in 20 proz. Essigsäure, Auswaschen, Fixieren zunächst in 10 proz. Tanninlösung, nochmals auswaschen und nachfixieren in 1 bis 3 proz. Brechweinsteinlösung) zu empfehlen (Widmann).

Hydrachniden (Wassermilben). Fixation mit Sublimat-Essigsäure und Zenkerscher Flüssigkeit. Um ein besseres Eindringen der Reagentien zu ermöglichen, wird den Tieren der Hinterleib abgeschnitten, oder wenigstens angestochen. Das fixierte Material wird teils zu Total-, teils zu Schnittpräparaten verwendet. Die Herstellung der letzteren ist immer wegen der Härte der Körpercuticula mit Schwierigkeiten verknüpft. Für Arten mit weichhäutigem Panzer (Diplodontus despiciens) empfiehlt sich die Einbettung in Celloidin-Paraffin nach Field und Martin. Grössere Schwierigkeiten machen die Spezies mit harter Cuticula (Limnesia, Curvipes). Man bettet diese zuerst in Collodium elasticum ein (welches sich wegen des Gehaltes an Ricinusöl und Terpentin besser als gewöhnliches Celloidin eignet) und dann nochmals in gewöhnlicher Weise in Paraffin. Bei Curvipes carneus gelingt es wohl auch die Augen einzeln zu isolieren und so in Paraffin einzubetten, und zwar lässt sich der Panzer am leichtesten ablösen, wenn das Tier nach der Fixierung in 30—50 proz. Alkohol gelegen hat. Die mit Wasser aufgeklebten Schnitte werden mit einem dünnen Photoxylinüberzug versehen, um das Fortschwimmen von Cuticularteilen zu verhindern. Färbung mit Eosin-Hämatoxylin oder mit Eisenhämatoxylin. Das Pigment lässt sich bei manchen Arten (Diplodontus, Limnesia) schon durch verhältnismässig schwachen Alkohol ausziehen. Für andere Arten empfiehlt sich das Grenachische Gemisch (1 Teil Glyzerin, 2 Teile 80 proz. Alkohol mit einem Zusatz von 2—3 proz. Salzsäure oder die Seilersche Flüssigkeit (70 Teile 1 proz. Chromsäure, 3 Teile Salpetersäure, 200 Teile Wasser). Einwirkung 3—4 Tage (Lang).

Hexapoden (Insekten). Fixieren der abgeschnittenen Köpfe in Pikrin-

schwefelsäure (= Kleinenbergsche Flüssigkeit. 100 ccm kalt gesättigter Pikrinsäurelösung werden mit 2 ccm conc. Schwefelsäure versetzt, wobei sich ein reichlicher Niederschlag bildet. Nach 24 Stunden wird filtriert und das Filtrat mit 300 ccm Wasser versetzt), Pikrinessigsäure (konz. wässerige Pikrinsäure wird mit 2 Teilen Wasser verdünnt und dieser Lösung 1 pCt. Eisessig zugesetzt), oder konz. Sublimat, eventuell mit 2 pCt. Essigsäure. Durchfärben mit Boraxkarmin und Nachfärben mit Bleu de Lyon. Isolieren der Ocellen in 2 proz. Essigsäure bei 45°, geringen Mengen von 0,005 proz. Chromsäure, 10 proz. Alkohol oder stark verdünntem Eau de Javelle. Entpigmentieren in 25 proz. Salpetersäure oder Chromsalpetersäure (= Perényische Flüssigkeit) (Redikorzew).

Orthopteren (Gradflügler). Zum Studium der Stirnaugen der Brotschabe (Periplaneta) fixiert man die abgeschnittenen Köpfe in heisser Perényischer Flüssigkeit (Reitzenstein).

Dipteren (Zweiflügler [Mücken, Bremsen, Fliegen]). Die Tiere werden, eventuell nach Durchstechung der Chitinhülle, in die Fixierungsflüssigkeit gebracht. Zu empfehlen ist ein Gemisch von 6 Teilen käuflichem Formol, 15 Teilen 96 proz. Alkohol, 1 Teil Eisessig und 30 Teile dest. Wasser. Die Objekte bleiben darin über Nacht und werden dann in 70 proz. Alkohol gebracht. Zum Entpigmentieren dient verdünntes Königswasser (150 Teile Wasser, 3 Teile Salzsäure, 3 Teile Salpetersäure) oder für hartnäckige Fälle ein Gemisch von 1 Teil Glyzerin, 20 Teilen 80 proz. Alkohol mit geringem oder stärkerem Zusatz von Salzsäure. Von Färbemitteln bewährte sich Hämalaun (Dietrich).

Lepidopteren (Schmetterlinge). Fixieren in Flemmingscher Lösung oder Sublimatalkohol. Entpigmentieren mittelst naszierenden Chlors nach Mayer (aus chlorsaurem Kali und Salzsäure) (Crevatin).

II. Das Cephalopodenauge.

Zur Fixation der Netzhaut der Cephalopoden eignen sich am besten Sublimateisessig oder Formol, auch die Zenkersche Flüssigkeit. Untersuchung mit der Golgischen Methode.

Lamellibranchier (Muscheln). Fixation der Augen in Pikrinschwefelsäure, konz. Sublimat mit 5 proz. Eisessig, oder 10 proz. Formol. Entpigmentieren mit Chromsalpetersäure (Hesse).

Heteropoden (Keilschnecken). Formolfixierung.

Gastropoden (Schnecken). Fixierung der Augenfühler in 4 proz. Bichromat (Flemming), Osmiumdampf (Carrière), Perénjischer Flüssigkeit (für das Stützgewebe) und einem Gemisch aus 4 Teilen Formol und 1 Teil 3 proz. Kal. bichrom. oder Sublimat (für die nervösen Elemente) (Bäcker).

III. Das Auge der Würmer.

Turbellarien (Strudelwürmer). Fixation 1—2 Stunden in Pikrinschwefelsäure. Durchfärben mit Boraxkarmin. Die Schnitte kommen auf 10 Minuten in Osmiumsäure auf den Wärmeschrank und dann ebenso lange in Holzessig. Bleichung des Pigmentes mit Wasserstoffsuperoxyd. (Jänichen).

Polychaeten. Vor der Fixation Betäubung in Seewasser + 5 proz. absol. Alkohol, oder man setzt dem Wasser 0,1 proz. Chloralhydrat zu, oder bringt die Tiere in kohlensäurehaltiges Wasser. Auch eine konzentr. Lösung von Äther in Süss- oder Seewasser ist ein vorzügliches Betäubungsmittel. Als Fixationsmittel dienen konz. Sublimat oder Sublimateisessig (Sublimat 3—12 g, Kochsalz 6—10 g, Eisessig 6—8 ccm, Wasser 100) (Hesse).

Hirudineen (Egelwürmer). Abtöten in schwachem Jodalkohol, Fixation in Pikrinschwefelsäure, Einlegen in 1 proz. Osmiumsäure bis zur Bräunung. Durchfärben in Boraxkarmin (Mayer).

Literatur.

Altland, Monatsbl. Augenheilk. 1904. — Altmann, Arch. Anat. u. Phys. 1881. — Altmann, Elementarorganismen u. ihre Beziehungen zu den Zellen. 1894. — Angelucci, Unters. z. Naturlehre v. Moleschott. 1892. — Bäcker, Arb. Zool. Inst. Wien. Bd. 14. 1903. — Birch-Hirschfeld, Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. XXI. 1. S. 1—5. 1904. — Arch. f. Ophth. Bd. 67. S. 307. 1908. — Blum, Anat. Anz. Bd. II. 1896. — Encycl. d. mikr. Techn. Art.: Formaldehyd. — Cameron, Journ. of Anat. Phys. Bd. 39. 1905. — Carlson, Amerc. Journ. Anat. Bd. II. 1903. — Carnoy, Cellule. Bd. I, II, III. 1885, 1886, 1887. — Carrière, Zool. Anz. 9. Jahrg. 1886. — Chievitz, Intern. Monatsschrift. f. Anat. u. Phys. Bd. IV. 1887. — Crevatin, Ric. Lab. Anat. Roma. Bd. V. 1895. — Dietrich, Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 92. 1909. — Dimmer, Beitr. z. Anat. u. Phys. d. Macula lut. d. Menschen. 1894. — Fischer, Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. 1899. — Flemming, Zellsubstanz, Kern und Zellteilung. 1882. — Arch. f. mikr. Anat. Bd. 6. 1870. — Bd. 15. 1878. — Bd. 45. 1895. — Greeff, Anl. z. mikr. Unters. d. Auges. 1910. — Heidenhain, Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 25. 1908. — Henle, Eingeweidelehre. 1875. — Hermann, Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch. v. Merkel u. Bonnet. Bd. II. Abt. 2. 1893. — Herzog, Encycl. d. Mikr. Techn. Art. Auge. — Hess, Arch. f. Ophth. Bd. 47,2. 1899. — Hesse, Zeitschr. Wiss. Zool. Bd. 54. 1892. — Bd. 68. 1900. — Bd. 70. 1901. — v. Hippel, Ber. 26. Vers. Ophth. Ges. Heidelberg. 1897. — Howe, Transact. of the Americ. Ophth. Society. Thirty first annual meeting. New-London. 1895. — Inouye, Inaug.-Diss. München 1908. — Jänichen, Zeitschr. wiss. Zool. Bd. 62. 1896. — Johnson, bei Lee und Mayer, Grundz. d. mikr. Techn. 1898. — Kallius, Erg. d. Anat. u. Entwicklungsgesch. Bd. XII. 1902. — Kleinenberg, Deutsche Ausg. v. Foster u. Balfour, Grundz. d. Entwicklungsgesch. d. Tiere. 1876. — Lang, Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. u. Ontogen. Bd. 21. 1905. — Mayer, Zool. Jahrb. Bd. 5. 1892. — Michaelis, Verhandl. d. Leopoldin. — Carol. Akad. d. Naturforscher. Bd. 20. 1842. — Müller, Verhandl. d. Physik. med. Gesellsch. Würzburg 1859. — Nowikoff. Zeitschr. Wiss. Zool. Bd. 71. 1905. — Bd. 91. 1908. — Parker, Mitt. Zoolog. Stat. Neapel. Bd. 12. 1895. — Perényi, Zoolog. Anz. Jahrg. V. 1882. — Prokopenko, Arch. Ophth. Bd. 75. H. 3. 1910. — Purcell, Zeitschr. Wiss. Zool. Bd. 58. 1894. — Rabl, Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. XI. 1894. — Ranvier, Traité techn. d'histologie. II. éd. 1889. —

v. Rath, Zoolog. Anz. Bd. 14. 1891. — Redikorzew, Zeitschr. Wiss. Zool. Bd. 68. 1900. — Reitzenstein, Zoolog. Jahrb. Bd. 21. 1904. — Rosenstadt, Arch. Mikr. Anat. Bd. 47. 1896. — Schuberg, Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 74. 1903. — Arch. Protistenk. Bd. 6. 1905. — Schultze, M. Schultzes Arch. Bd. II. 1866. — Schultze und Rudneff, Arch. f. mikr. Anat. Bd. I. 1865. — Stoelzner, Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 23, I. 1906. — v. Tellyesnicki, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 52. 1898. — Encycl. d. mikr. Techn. II. Aufl. Bd. I. S. 376. — Virchow, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 24. — Widmann, Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 90. 1908. — Zenker, Münch. med. Wochenschr. 41. Jahrgang. S. 532. 1894. — Zürn, Arch. f. Anat. u. Phys. Anat. Abt. 1902.

II. Auswaschen.

Nach Anwendung der meisten Fixierungsmittel müssen die Bulbi ca. 24 Stunden lang in fliessendem Wasser ausgewaschen werden. Bei gewissen Reagentien, wie beim Formol ist dieses nicht unbedingt nötig, bei anderen, wie bei der Picrinsäure, Salpetersäure, sogar schädlich.

Das Auswaschen geschieht am schonendsten, wenn man das Wasser aus der Wasserleitung nicht direkt in das den Bulbus enthaltende Gefäss einströmen lässt, sondern wenn man ein grösseres Glasgefäss als Reservoir dazwischen schaltet. In dieses Reservoir lässt man das Wasser durch einen Gummischlauch, der bis auf den Boden des Gefässes reicht, unter sorgfältiger Regulierung des Druckes einfliessen, und führt dasselbe durch einen kleinen gleichschenkligen Heber, den man sich aus einer Glasröhre in der Flamme zurechtbiegen kann, in das daneben stehende den Bulbus enthaltende Glasgefäss ab. Sollen gleichzeitig mehrere Präparate ausgewaschen werden, so ordnet man die Präparatengläser um das Reservoir herum und verbindet sie mit demselben durch mehrere Glasheber. Damit die Präparatengläser nicht überlaufen, müssen sie etwas höher stehen als das Reservoir. Den Abfluss des Wassers aus diesen Gläsern besorgt man durch einen zweiten ungleichschenkligen Heber, der mit seinem längeren Schenkel bis fast auf den Boden des Präparatenglases reichen soll, um auf diese Weise die hier in der Umgebung des Präparates gewöhnlich stark Fixationsflüssigkeit haltige Wasserschicht gut entfernen zu können. Um bei sehr feinen Präparaten ein Wegspülen zu verhindern, umbindet man das Ende dieses Heberschenkels mit einem Stückchen Gaze. Bei sehr zarten Objekten, wie Retinastückchen, verzichtet man lieber auf das fliessende Wasser, weil dieselben durch die Wirbelbewegung des Wassers zu sehr leiden.

Man wäscht sie dafür durch öfters gewechseltes Wasser aus. Sehr praktisch für diesem Zweck sind die Steinach schen Siebdosen[1]), (Doppeldosen aus Glas: die innere Dose besitzt ein Glassieb als Boden und steht auf 3 Glassfüsschen in der äusseren etwas grösseren und ebenso hohen Dose, die durch einen Glasdeckel verschlossen werden kann. Die in der inneren Dose liegenden Präparate können, ohne berührt zu werden, beliebig behandelt werden. Diese Siebdosen eignen sich nicht nur vorzüglich zum Auswaschen der Präparate wegen des Ausschlusses jeder Möglichkeit mechanischer Insulte, sondern können auch zum Färben, Entfärben, Entsäuern etc. gebraucht werden), oder die Fairchild schen Porzellansiebe[2]) (durchlöcherte Porzellanzylinder, die durch einen Kork geschlossen und dadurch in fliessendem Wasser schwimmend gehalten werden).

Literatur. Fairchild, Zeitschr. Wiss. Mikr. Bd. 12. 1896. — Steinach, ebenda. Bd. 4. 1887.

III. Entkalken.

Normalerweise findet sich verkalkter Knorpel in den Augen einiger Fische (Sternhai, Stechrochen, Hammerhai), echter Knochen bei den meisten Knochenfischen (alle Stachelflosser, besonders stark beim Thunfisch und Schwertfisch, dagegen fehlend bei den Aalen, Welsen, Stichlingen, Schellfischen etc.), bei einigen Amphibien (Schildkröten, Eidechsen, Chamäleon, nicht bei den Krokodilen), und bei den Vögeln als hinterer Skleralknochen (Singvögel, Turmfalke, Colibri, Gimpel, Specht) und als vorderer Scleroticalring (Bussard, Alk, Eule). Bei den Schlangen und Säugetieren kommen keine Kalkablagerungen vor.

Pathologischerweise finden sich Verkalkungen im menschlichen Auge in der Cornea und Linse, im Uvealtraktus und im Glaskörper nach vorhergegangenen Entzündungen, ferner in Tumoren (Netzhautgliom, Aderhautsarkom). Es kann sogar echte Ossifikation entstehen. Verknöcherung des Glaskörpers kommt auch bei Pferden häufig vor. Da derartige Augen das Schneiden mit dem Mikrotommesser erschweren oder unmöglich machen, so ist es notwendig, die Kalksalze vorher zu entfernen. Dieses geschieht durch die Entkalkungsflüssigkeiten.

Bei der **Anwendung der Entkalkungsflüssigkeiten** ist in

[1]) Bei Grübler u. Co., Leipzig.
[2]) Bei E. Leitz, Berlin, Luisenstr. 45.

Betracht zu ziehen, dass die Entkalkung immer eine sehr eingreifende Prozedur ist, und dass durch die sich dabei entwickelnde Kohlensäure sehr leicht beträchtliche Veränderungen hervorgerufen werden können. Um dieses möglichst zu vermeiden, entkalke man daher die Objekte niemals frisch, sondern immer erst nach vorausgegangener Fixierung. Aus diesem Grunde sind auch bei Augen, die Kalksalze enthalten, Fixierungsmittel, die zu gleicher Zeit Kalk lösen, wie die Müllersche Flüssigkeit, Salpetersäure, Pikrinsäure, zu vermeiden. Zu empfehlen ist dagegen die Formalinfixierung.

Um die Entkalkung möglichst zu beschleunigen, nehme man recht viel Flüssigkeit und wechsele dieselbe öfters.

Die Entkalkung ist vollendet, wenn die betreffenden Stücke biegsam geworden sind oder das Eindringen einer Präpariernadel leicht gestatten.

Nach der Entkalkung müssen die Präparate sehr gründlich, mindestens 24 Stunden lang, ausgewaschen werden.

Von den vielen gebräuchlichen **Entkalkungsflüssigkeiten** ist für das Auge am meisten die 5 proz. wässerige Salpetersäure mit nachfolgender Neutralisierung in 5 proz. Lithium- oder Natriumsulfat oder 5 proz. Kalialaunlösung zu empfehlen. Darauf gründliches Auswaschen in fliessendem Wasser. Diese Methode ist auch noch verwendbar nach vorhergegangener Celloidineinbettung, wenn man erst beim Schneiden merkt, dass der Bulbus kalkhaltig ist. In diesem Falle muss man das Celloidin durch Alkohol-Äther $\overline{aa}$ wieder auflösen, den Bulbus durch die Reihe der Aklohole in Wasser bringen und dann entkalken.

Andere empfehlen auch die Haugsche Lösung (Acid. nitr. 3—9 ccm, Alkoh. absol. 70,0, Aq. dest. 30,0. Chlornatrium 0,25), die Thomasche Lösung (96 proz. Spiritus 5 Teile, officin. reine konz. Salpetersäure 1 Teil. Dann Auswaschen in häufiger zu wechselndem Spiritus, dem präzipierter kohlensaurer Kalk (officin.) oder Kreidepulver zugesetzt ist), die wässerige Kochsalzsäuremischung (10—15 proz. Kochsalzlösung mit 1—3 pCt. Salzsäure (v. Ebner)), die alkoholische Kochsalzsäuremischung (Acid. hydrochl. 2,5, Alkohol 96 proz. 500,0, Aq. dest. 100,0, Chlornatr. 2,5), das Palladiumchlorid (1: 2000 Wasser, zu deren jeden 100 g 15—20 Tropfen Salzsäure hinzugesetzt werden (Waldeyer), das Phloroglucin (Phloroglucin 1,0, Acid. nitr. 5,0. Alkohol 70,0, Aq. dest. 30,0, (Haug, Andeer)), die Trichloressigsäure (5 proz. wässerige Lösung, entsäuern in fliessendem Wasser, Härten in steigendem Alkohol (Partsch, Neuberger, Heidenhain).

Literatur.

Andeer, Zentralbl. Med. Wiss. 1884. — v. Ebner, Sitz. Akad. Wiss. Wien. Bd. 72. 1875. — Haug, Zentralbl. Allg. Path. Bd. 2. 1891. — Zeitschr. Wiss. Mikr. Bd. 8. 1891. — Heidenhain, Zeitschr. Wiss. Mikr. Bd. 22. 1905. — Neuberger, Physiol. Zentralbl. Bd. 9. 1897. — Partsch, Verh. Deutsch. Naturf. Wien. 1894. — Thoma, Arch. Path. Anat. Bd. 104. 1886. — Waldeyer, in Strickens Handb. d. Lehre von d. Geweben. Bd. 2. 1872.

IV. Nachhärten.

Nachdem die Bulbi fixiert und ausgewaschen, eventuell auch noch entkalkt und wieder ausgewaschen sind, kommen dieselben in Alkohol von steigender Konzentration. Hierdurch werden sie wasserfrei gemacht, gehärtet, und nehmen so eine geeignete Schnittresistenz an. Je langsamer die Wasserentziehung geschieht, um so brauchbarer wird das Präparat. Namentlich zum Studium der Aderhaut ist ein ganz allmähliches Entwässern unbedingt nötig, da die durch die Blutleere der kollabierten Gefässe bereits stark verdünnte Haut durch ein plötzliches Einbringen in starken Alkohol nur noch mehr in ihrer Dicke reduziert wird.

Man erreicht eine derartige langsame Entwässerung, indem man das Wasser, in welchem der Bulbus sich noch befindet, im Glase mit 96 proz. Alkohol überschichtet. Es tritt nun eine ganz allmähliche Mischung von Alkohol und Wasser ein, welche in ungefähr 2—3 Wochen beendet ist. Wiederholt man nun unter Abgiessen eines Teiles der Flüssigkeit den Prozess noch einmal, so hat man, wenn man jedesmal doppelt so viel Alkohol als Wasser genommen hat, bereits ungefähr 75 proz. Alkohol (Wolfrum).

Diese Methode gibt ganz vorzügliche Präparate: die Bulbi sind fast frei von Schrumpfung, aber sie ist auch sehr zeitraubend. Schneller und für die meisten Zwecke ausreichend kommt man auf folgende Weise zum Ziel: die Bulbi kommen

1.	in	Spiritus	35	proz.	24	Stunden lang
2.	„	„	50	„	24	„ „
3.	„	„	70	„	24	„ „
4.	„	„	80	„	24	„ „
5.	„	„	90	„	24	„ „
6.	„	„	96	„	24	„ „
7.	„	„	absol.		48	„ „

Man stellt sich diesen dünnen Spiritus durch Verdünnung des gewöhnlichen 96 proz. Spiritus mit dest. Wasser dar:

100	ccm	35	proz.	Spir.	=	36	ccm	96	proz.	Spir.	+ 64	ccm Aq. dest.
100	„	50	„	„	=	52	„	96	„	„	+ 48	„ „ „
100	„	70	„	„	=	73	„	96	„	„	+ 27	„ „ „
100	„	80	„	„	=	83	„	96	„	„	+ 17	„ „ „
100	„	90	„	„	=	94	„	96	„	„	+ 6	„ „ „

Der absolute Alkohol ist mindestens einmal nach 24 Stunden zu wechseln. Zur völligen Entwässerung in absolutem Alkohol bedient man sich zweckmässig eines Exsiccators, dessen Boden mit pulverisiertem, geröstetem Kupfervitriol bedeckt ist. Auf das Drahtnetz kommen die Präparate zu liegen[1]). Man kann sich einen solchen Exsiccator auch auf einfache Weise selbst herstellen, indem man in ein zylindrisches Glasgefäss ein Stück Gaze mit Hülfe eines Neusilberstreifens einklemmt. Sobald das weisse Kupfervitriolpulver seine blaue Färbung wieder durch Wasseraufnahme angenommen hat, muss es durch neues wasserfreies Kupfervitriol ersetzt, resp. ausgeglüht werden (cf. S. 40).

Soll der Bulbus längere Zeit in Alkohol aufbewahrt werden, bevor er zur Untersuchung gänzlich erhärtet wird, so geschieht dies am besten in dem 90 proz. Alkohol. In demselben kann er bis zur definitiven Fertigstellung lange Zeit verweilen.

Literatur. Oelsner, Deutsch. med. Wochenschr. Jahrg. 34. No. 47. 1908. — Wolfrum, Arch. f. Ophth. Bd. 67. 1908.

V. Aufschneiden des gehärteten Bulbus.

Hat der Bulbus eine genügende Schnittkonsistenz erlangt, was gewöhnlich nach dem Aufenthalt in 80—90 proz. Spiritus, manchmal aber erst nach Einwirkung des absoluten Alkohols der Fall ist, so eröffnet man denselben, um dadurch ein leichteres Eindringen der Einbettungsmasse (Celloidin, Paraffin) zu ermöglichen.

Der Zeitpunkt des Aufschneidens ist abhängig von der Grösse des Glaskörpers, seinem Wassergehalt und von der Art des benutzten Fixationsmittels. Die Eröffnung des Auges geschieht am besten so, dass man vom oberen und unteren Pol (über Orientierung vergl. Kap. IV) eine Kalotte abschneidet; das mittlere Stück enthält so den vorderen Augenabschnitt, Sehnerv, Papille und Macula. Je nach dem beabsichtigten Zweck macht man die Kalotte

[1]) Ein praktischer Exsiccator, der zu gleicher Zeit die Entnahme wasserfreien Alkohols erlaubt, ist von *Oelsner* angegeben worden. Zu beziehen von *M. Schaerer*, A.-G., Bern.

grösser oder kleiner. Bei grösserem Kalottenschnitt denke man daran, dass hierbei das Messer an der harten Linse Widerstand findet und daher leicht eine Verschiebung derselben mit Zerreissung der Zonula bewirken kann. Man schützt sich dagegen am besten dadurch, dass man den Bulbus mit der Cornea nach unten auf eine weiche Unterlage (s. S. 11) legt und ihn so von oben her in langen Zügen durchschneidet[1]).

Will man die abgeschnittenen Kalotten auch noch bearbeiten, so muss man senkrecht zu den eben ausgeführten Horizontalschnitten die Kalotten durch zwei weitere Schnitte wieder in je 3 Teile zerlegen und nur das mittlere Kalottendrittel in vertikaler Richtung mit dem Mikrotom schneiden, sonst erhält man anstatt senkrechter Schnitte wegen der Kugelgestalt des Auges Schräg- oder am Pol sogar Flachschnitte.

Zweckwidrig ist es dagegen, den Bulbus durch einen Horizontalschnitt in der Mitte zu halbieren, weil man dabei riskiert, die Gegend der Macula zu verlieren. Beim Schneiden mit dem Mikrotom muss bei dieser Sektionstechnik die papillo-maculare Region zuerst getroffen werden, und da erfahrungsgemäss die ersten Schnitte immer nur Versuchsschnitte und deshalb gewöhnlich unbrauchbar sind, so ist die Gefahr eine sehr grosse, dass diese wichtige Region des Bulbus der Untersuchung verloren geht.

In gewissen Fällen wird man es vorziehen, anstatt der 2 horizontalen Kalottenschnitte einen Äquatorialschnitt zu machen, der den Bulbus in eine vordere und eine hintere Hälfte zerlegt. Das ist z. B. der Fall, wenn man nur einzelne Teile des Auges mikroskopisch untersuchen will. Die vordere und hintere Halbkugel kann man dann beliebig weiter zerlegen, bevor man sie in Celloidin oder Paraffin einbettet. Aus der vorderen Hälfte entfernt man, wenn irgend möglich, am besten jetzt vorsichtig die Linse. Natürlich gibt es auch Fälle, wo man von diesem Verfahren abweichen muss. Bei der Untersuchung von Vogelaugen z. B. könnte man auf diese Weise den Fächer verletzen. Man legt deshalb zuerst einen Horizontalschnitt durch den oberen Pol der Hornhaut an und löst dann durch einen vor dem Äquator und parallel mit demselben verlaufenden Schnitt den vorderen Teil des Bulbus vom hinteren mittels der Schere los.

Überhaupt richtet sich die Schnittfärbung selbstverständlich immer nach dem jeweiligen Zwecke.

[1]) Leber hat einen Apparat konstruiert, der es ermöglicht, den Bulbus in ganz bestimmter Richtung zu durchschneiden.

BOSTON MEDICAL
JUL 25 1911
LIBRARY.

Handelt es sich um einen intraokularen Tumor, so schneidet man senkrecht auf die Basis desselben, den man gewöhnlich von aussen palpieren kann.

Da beim chronisch entzündlichen Glaukom sich die Entzündung, wie Birnbacher und Czermak gezeigt haben, längs der Venen und zwar aufs evidenteste nachweisbar längs der Vortexstämme in deren skleralen Emissarien etabliert, so verfährt man in diesem Falle auf folgende Weise: Der Bulbus wird durch zwei Frontalschnitte in 3 Zonen zerlegt, deren erster in der Gegend der ora serrata, deren zweiter hinter dem Austritte der Vortexvenen gelegt wird, so dass der Bulbus in einen vorderen Abschnitt, eine äquatorielle Zone und einen hinteren Abschnitt zerfällt. Die äquatorielle Zone wird dann in vier Quadranten geteilt, deren jeder einen Vortexstamm enthält (a. o., a. u., i. o., i. u.).

Ebenso verfährt man beim Hydrophthalmos.

Nachdem der Bulbus auf die eine oder andere Weise zerschnitten ist, legt man die einzelnen Stücke wieder in den 80—90 proz., resp. 100 proz. Alkohol zurück.

Literatur. Birnbacher und Czermak, Arch. f. Ophth. Bd. 31,1 u. 32,2. — Leber, Ber. über d. 22. Ophth. Ges. Heidelberg. 1892. S. 211.

VI. Einbettung.

Nachdem die Bulbi fixiert und gehärtet sind, muss man dieselben, um feine Schnitte anfertigen zu können, einbetten. Die Kunst der Einbettung besteht darin, das Gewebe derartig mit einer Masse zu durchtränken, dass dieselbe sich nicht wie ein Mantel um das Objekt herumlegt, sondern dasselbe derartig durchdringt, dass sie nach dem Erhärten eine etwas festere Konsistenz besitzt, als das eingebettete Objekt. Wir benutzen als geeignete Einbettungsmassen das Celloidin (resp. das Photoxylin) und das Paraffin. Für besondere Zwecke dienen ausserdem noch einige andere Einbettungsmethoden.

A. Celloidineinbettung.

Die Celloidineinbettung, zuerst von Schiefferdecker empfohlen, von Becker für den Bulbus angewandt, ist das gebräuchlichste und beste Verfahren zur Herstellung von Schnitten durch den Augapfel. Mit keiner anderen Methode gelingt es, so grosse Schnitte herzustellen, wie es gerade beim menschlichen

Bulbus erforderlich ist; und keine andere Einbettungsmasse durchdringt die Hornhaut, die Lederhaut und die Linse so gut wie das Celloidin. Die Celloidineinbettung bietet der Paraffineinbettung gegenüber ferner noch den Vorteil, dass sie bei gewöhnlicher Temperatur vorgenommen werden kann und deshalb die Gewebsstruktur möglichst schont; dass das Schneiden sowohl bei kalter wie bei warmer Witterung gleich gut vorgenommen werden kann; dass die Einbettungsmasse bei dem nachfolgenden Färbeprozess nicht ausgezogen zu werden braucht; dass es nicht nötig ist, die Celloidinschnitte aufzukleben, wodurch die Farblösungen von allen Seiten einwirken können. Als Nachteil der Paraffineinbettung gegenüber ist zu erwähnen, dass die Celloidinmethode eine längere Zeitdauer erfordert, und dass niemals so dünne Schnitte erzielt werden können wie bei der Paraffinmethode.

Das Celloidin kommt in 40 g schweren Tafeln, in Blechbüchsen verschlossen, in den Handel[1]). Da dasselbe meistens etwas wasserhaltig und infolgedessen undurchsichtig und von weisslicher Farbe ist, so ist es unbedingt nötig, dasselbe vor dem Gebrauch zu trocknen, denn nur ein völlig wasserfreies Celloidin gestattet eine gute Einbettung. Zu diesem Zwecke zerschneidet man die knorpelharte Celloidintafel in kleine Würfel oder Späne und stellt dieselben, vor Staub geschützt, auf den Wärmeschrank zum Trocknen. Sind die Celloidinstückchen ganz hart und durchsichtig geworden, so löst man dieselben in einem weithalsigen mit einem Kork[2]) hermetisch verschlossenen Glasgefäss, in einer Mischung von absol. Alkohol und Äther zu gleichen Teilen auf. Diese Alkohol-Äthermischung muss durch ausgeglühtes Kupfervitriol (s. S. 40) ebenfalls völlig wasserfrei gemacht sein. Zweckmässig ist es, die Celloidinstückchen in einem Gazebeutel in den Alkohol-Äther hineinzuhängen, bis die gewünschte syrupdicke Konsistenz erreicht ist. dickes Celloidin. Um die Lösung des Celloidins zu beschleunigen, lässt man dasselbe zunächst durch Bedecken mit absol. Alkohol aufquellen und fügt erst dann den Äther hinzu (Elschnig). Aus dem dicken Celloidin stellt man sich durch weitere Verdünnung mittelst der Alkohol-Äthermischung das

[1]) Chemische Fabrik vorm. E. Schering, Berlin.

[2]) Eingeschliffene Glasstöpsel sind zu vermeiden, da sie sich, wenn das Celloidin in dem Flaschenhals antrocknet, nur schwer entfernen lassen. Neumayer empfiehlt zu diesem Zwecke die sog. „Reform-Konservengläser", deren Gummiringdichtung er durch eine solche von Asbest oder Linoleum ersetzt.

dünne Celloidin dar, das dünnflüssig wie Collodium sein soll. Werden die Lösungen mit der Zeit durch Wasseraufnahme aus der Luft trüb und milchig, so ist es besser, dieselben so nicht zu benutzen, sondern man lässt sie dann vollkommen eintrocknen und löst die Stücke von neuem in Alkohol-Äther.

Um den Bulbus einzubetten, bringt man ihn, nachdem er in Alkohol absol. völlig entwässert ist, auf 24 Stunden in eine völlig wasserfreie Mischung von Alkohol absol. und Äther $\overline{aa}$, und erst dann in die dünne Celloidinlösung, in der er auf einer Schicht Glaswolle zu liegen kommt, um ein gleichmässiges Eindringen der Celloidinlösung von allen Seiten zu ermöglichen.

Die gut verschliessbare Schale mit der Celloidinlösung wird auf ein Drahtgitter in einen Exsiccator gestellt, dessen Boden mit ½ cm hohen gebrannten Kupfersulfat bedeckt ist, worüber sich eine 1 cm hohe Schicht von absol. Alkohol befindet. Der Deckel des Exsikkators wird mit Vaselin, Paraffin liquid. oder Glyzerin luftdicht aufgerieben. Auf diese Weise befindet sich das Celloidin mit dem Präparat in einem mit Alkoholdämpfen erfüllten Raum, und kann deshalb aus der Luft kein Wasser anziehen (Neumayer).

Je länger man das Objekt in der dünnen Celloidinlösung lässt, um so besser dringt dieselbe ein, und um so dünnere Schnitte erhält man. Ein menschlicher Bulbus braucht mindestens 14 Tage dazu (kleine 1 cm dicke Stücke mindestens 24 Stunden). Dann kommt er auf eben so lange Zeit und unter Beobachtung derselben Vorsichtsmassregeln in das dicke Celloidin.

Ist das Celloidin gehörig eingedrungen, so bettet man das Präparat in dem dicken Celloidin ein: Zu diesem Zwecke giesst man letzteres in ein entsprechend hohes und breites Gefäss, das einen abgeschliffenen Rand hat, und legt den Bulbus in die Lösung hinein. Das Celloidin muss den Bulbus in einer ziemlich dicken Schicht bedecken, auch muss zwischen dem Bulbus und der Gefässwand noch eine reichliche Celloidinschicht sich befinden. Man achte darauf, dass man durch mehrmaliges Umwenden des Präparates alle Luftblasen entferne. (Damit das Celloidin auch gut in die Vorderkammer eindringt, kann man in die Cornea eine kleine Öffnung anbringen; man tut dies am besten schon beim Einlegen in das Alkohol-Äthergemisch. Unbedingt nötig ist es aber nicht.) Nun wird das Gefäss mit einer Glasplatte gut bedeckt, beschwert und an einen kühlen Ort zur Verdunstung gestellt. Durch Zwischenlegen von Papier kann man die Ver-

dunstung etwas beschleunigen. Es kommt alles darauf an, dass das Erhärten des Celloidins **langsam** erfolgt. Je langsamer, desto schöner und desto sicherer frei von Luftblasen erhält man die Einbettung. Lässt man dagegen durch reichlicheren Luftzutritt die Celloidinlösung schneller verdunsten, so wird die Oberfläche desselben bald hart und verhindert die Verdunstung der unteren Schichten des Celloidins, die so flüssig bleiben. Die Celloidinmasse erstarrt auf diese Weise ungleichmässig, und wenn man dann etwa eine Nadel hineinsticht, um sich darüber zu orientieren, wie weit das Celloidin fest geworden ist, dann bilden sich grosse, oft schwer zu beseitigende Luftblasen. Solche Luftblasen sind im höchstem Grade störend und daher zu vermeiden. Haben dieselben sich trotz aller Vorsichtsmassregeln gebildet, so ist es am besten, dieselben mit einem Skalpell breit zu öffnen, die Höhle mit Äther zu befeuchten und mit Celloidin auszugiessen. Empfehlenswert ist auch das langsame Absaugen der Luft mit einer Wasserluftpumpe (H e r z o g).

Der Bulbus bleibt solange in dem Celloidin, bis die Lösung so weit eingedickt ist, dass man mit der Fingerspitze (nicht mit dem Nagel) kaum noch einen Eindruck machen kann. Wie lange dies dauert, lässt sich von vornherein nicht genau sagen. Es hängt von der grösseren oder geringeren Alkohol-Äthermenge, von der herrschenden Temperatur und von der Möglichkeit, dass die Lösung schneller oder langsamer verdampft, ab. Meist braucht man einige Tage bis Wochen dazu. Stets ist es besser, lieber einige Tage länger zu warten und das Verdampfen des Äthers zu einem möglichst langsamen zu gestalten.

Hat das Celloidin die nötige Konsistenz angenommen, so umschneidet man dasselbe an der Wand des Gefässes und bringt es durch Umstürzen und Klopfen heraus. Gelingt dieses nicht, so schneidet man im Gefäss den Celloidinzylinder prismatisch zu und entfernt die zwischen der Hauptmasse und der Gefässwand befindlichen keilförmigen Stücke, worauf der erstere stets leicht zu entfernen ist. Nun beschneidet man das Stück ringsum, indem man darauf Rücksicht nimmt, in welcher Ebene man später die Schnitte mit dem Mikrotommesser anfertigen will. Das abgeschnittene Celloidin wird getrocknet und kann dann wieder von Neuem aufgelöst und zur Einbettung verwendet werden.

Den ausgeschnittesenen Celloidinblock lässt man an der Luft noch etwas abdunsten, bis er annähernd die erforderliche Härte erreicht hat und legt ihn dann in 70—80 proz. Alkohol auf einige

Tage, bis das Celloidin knorpelhart geworden ist. In diesem Alkohol kann das Präparat lange Zeit aufgehoben werden.

Der gehärtete Celloidinblock muss, um ihn mit dem Mikrotommesser schneiden zu können, **aufgeklebt** werden. Zu diesem Zwecke eignen sich sowohl Metallklötze, die bei einigen Mikrotomen mitgeliefert werden, als auch besonders das Stabilit, ein von der Allgemeinen Elektrizitätsgesellschaft in Berlin empfohlenes Isolationsmaterial von roter Farbe und homogener Beschaffenheit. Stabilitplatten von verschiedener Grösse, deren Oberfläche mit Längs- und Querriefen versehen sind, damit das Celloidin besser haftet, sind im Handel zu haben (z. B. bei Altmann, Berlin). Das Stabilit verdient den Vorzug vor allem anderen zum Aufkleben benützten Material (Kork, Holz), weil es 1. nicht von Alkohol, Wasser, verdünnten Säuren und Alkalien angegriffen wird (der Alkohol zieht aus dem Holz und Kork die Gerbsäure aus, welche die Färbbarkeit der in dem Alkohol aufbewahrten Objekte schädigt), 2. weil es im Gegensatz zu Kork und Holz leicht in Alkohol untersinkt (Korkstücke müssen durch Bleikugeln beschwert werden), 3. weil es nicht, wie der elastische Kork, federt und sich dadurch fester in die Mikrotomklammer festklemmen lässt.

Um den Celloidinblock aufzukleben, bringt man ihn aus dem 70—80 proz. Alkohol, in dem er aufgehoben worden ist, für einige Minuten in Alkohol absol. und dann ebenso lange in Alkohol absol. und Äther $\overline{aa}$. Darauf taucht man ihn mit der aufzuklebenden Seite in die dicke Celloidinlösung und drückt ihn nun leicht auf den Stabilitblock auf. Nach kurzem Verweilen an der Luft kommt der Block mit dem Präparat wieder in den Alkohol zurück, oder man legt ihn in Chloroform oder setzt ihn Chloroformdämpfen zur Härtung aus. Als Klebemittel kann anstelle der Celloidinlösung auch Klebegummi, Leim oder ein Kitt aus 1 Teil Wachs und 2 Teile Kolophonium bestehend (Johnson) verwendet werden. Von letzterem, der von den Metalldrehern zum Aufkitten von Metallgegenständen auf Holz benutzt wird, bringt man einige Tropfen in geschmolzenem Zustande auf den wenig erwärmten Objektblock und drückt dann den an der Unterseite gut getrockneten Celloidinblock darauf, der nach dem Erstarren der Masse in einigen Sekunden festklebt.

Das Präparat kann jetzt in die Mikrotomklammer zum Schneiden gespannt werden.

Die Celloidineinbettung ist nicht möglich bei Gewebsstücken,

die auf Fett geprüft werden sollen, weil dieses durch Alkohol und Äther gelöst wird (vergl. Fett, Kap. X, C.).

Celloidintrockenmethode (nach Lee).

Mit dieser Methode lassen sich nach Wolfrum Sklera und Cornea so gut wie mit keiner anderen Methode schneiden. Vorzüge vor der vorigen Celloidinmethode sind die trockene Behandlung und das dadurch bedingte saubere Arbeiten, die Möglichkeit des ungemein raschen Schneidens, der Herstellung viel dünnerer Schnitte; Vorzüge vor der Paraffinmethode, die absolut von Schrumpfung freien Schnitte bei fast gleicher Dicke.

Die Objekte, am besten in Zenkerscher Lösung fixiert, kommen nach entsprechender Alkoholnachhärtung, wie auch sonst bei der Celloidineinbettung, aus absolutem Alkohol in möglichst wasserfreies Celloidin von dünner Konsistenz, das man allmählich eindicken lässt. Oder man wechselt das Celloidin unter Benutzung eingeengterer Lösungen.

Hat das Celloidin eine Konsistenz erreicht, dass es beim Schräghalten der Schale eben keine Neigung zum Fliessen mehr zeigt, ist es etwa gallertig geworden, so gibt man diese Schale offen in einen zweiten luftdicht abschliessenden Behälter, auf dessen Boden 30—50 g Chloroform ausgegossen sind. Dabei ist es am vorteilhaftetsten, wenn die Celloidinschicht nur wenige Millimeter das Objekt überdeckt. Die sich entwickelnden und in das Celloidin eindringenden Chloroformdämpfe rufen eine sehr schnelle Härtung des Celloidins hervor, ohne auch nur die geringste Schrumpfung zu verursachen. Gewöhnlich ist die Prozedur bei Schichten, die nicht über 2 cm Dicke haben, in 12 Stunden beendigt, wenn man nur genug Chloroform verwendet. Bei dickeren Schichten nimmt das Verfahren entsprechend längere Zeit in Anspruch. Aus der leicht milchig trüben Beschaffenheit des Celloidins ist leicht erkenntlich, ob die Chloroformdämpfe bis auf den Boden durchgedrungen sind.

Das Objekt hat so bereits Schneidekonsistenz erlangt. Man schneidet es aus der Masse zurecht und gibt es sofort zur Weiterbehandlung in ein Gemisch von Chloroform und gewöhnlichem Zedernholzöl zu gleichen Teilen in geschlossenem Behälter. Die Menge muss reichlich bemessen sein, die Höhe des Celloidinblockes mindestens um das Doppelte übertreffen und gut gemischt sein. Der Block schwimmt einige Zeit, sinkt aber sehr bald unter und muss dann von der Flüssigkeit überdeckt sein. Am besten stellt

man dann die offene Schale mit diesem Gemisch auf den Paraffinofen bei 30—40° C. In 1—2 Tagen verdunstet das Chloroform, natürlich mit bedeutender Reduktion des Flüssigkeitsvolumens. Dabei sorge man dafür, dass durch eventuelles Nachgiessen von Zedernholzöl der Block stets bedeckt bleibe. Liegt er frei, so kann sehr leicht Schrumpfung stattfinden.

Durch Fehlen des Chloroformgeruches kann man sich überzeugen, dass wenig oder fast gar kein Chloroform in der Mischung mehr vorhanden ist. Vorsichtigerweise kann man noch für einen halben Tag die Blöcke in reines Zedernholzöl legen.

Das Celloidin wird während des Verfahrens bernsteingelb und durchsichtig wie Glas. Auch das Objekt nimmt gewöhnlich einen hohen Grad von Durchsichtigkeit an. Weissliche Trübungen im Block sind ein Zeichen, dass das Celloidin nicht völlig wasserfrei war. Doch beeinträchtigen derartige Erscheinungen durchaus nicht die Schneidefähigkeit des Präparates, erschweren höchstens die Orientierbarkeit des Blockes. Das so vorbereitete Objekt nimmt man aus dem Öl und lässt es noch etwa einen halben Tag an freier Luft liegen, wodurch erfahrungsgemäss die Schneidefähigkeit bedeutend verbessert wird. Ist das Präparat richtig durchtränkt, so darf nicht das geringste Einsinken des Präparates an den Seiten während des Verweilens an der Luft stattfinden.

Man klebt die Blöcke wie andere Celloidinblöcke auf. Das Öl wird oberflächlich abgewischt. Als Bindemittel für den Holz- und Celloidinblock benützt man dickflüssiges Celloidin und wartet, bis durch Eintrocknung des Celloidins an der Luft eine absolut feste Verbindung der beiden Blöcke zustande gekommen ist, was in einer halben bis ganzen Stunde sicher der Fall ist. (Objekt nicht auf den Holzblock drücken!)

Acetoncelloidinschnelleinbettung (S c h o l z).

Die Einbettung von kleinen Celloidinpräparaten lässt sich bedeutend beschleunigen, wenn man anstatt des Alkohols Aceton nimmt, das wegen seiner dem Alkohol gleichen Eigenschaften sowohl als Fixations- wie Entwässerungsmittel die Schnittfähigkeit auch schwer zu schneidender Objekte günstig beeinflusst.

Frische oder in Formalin oder Alkohol fixierte höchstens 3 mm dicke Objekte werden im Wärmeschrank $^1/_2$—1 Stunde in Aceton behandelt, dann 4—5 Stunden bei 37—40° mit dünnem, dann 2—3 Stunden mit dickem Celloidin durchtränkt. Nach 12—14 Stunden ist der Celloidinblock knorpelhart und wird dann noch in dünnem Alkohol nachgehärtet.

Diese Methode gestattet auch den Fettnachweis bei Organen, die mit Osmiumsäure vorbehandelt sind.

B. Paraffineinbettung.

Dieselbe hat vor der Celloidineinbettung den Vorzug, dass sie gestattet, dünnere Schnitte anzulegen, und dass sie schneller zum Ziele führt (vergl. Celloidineinbettung). Ausserdem eignet sie sich besser für Serienschnitte und für die Durchfärbung ganzer Stückchen. Leider ist ihre Anwendung für das Auge mit mancherlei Schwierigkeiten verknüpft, denn einmal dringt das Paraffin in das derbe kollagene Gewebe der Sklera nur sehr schwer, in die Substanz der Linse gar nicht ein; und zweitens erhält man bei einigen zarten Gebilden des Auges, so bei der Zonula Zinnii leicht falsche Bilder, wenn man das Einbettungsmittel aus den Schnitten entfernt. Die grösste Zahl der Fäserchen verliert dann ihren Halt, fällt ganz weg, und die noch übrigen hängen, da sie meist nur noch einen Fixationspunkt haben, nach allen möglichen Richtungen durcheinander.

Was für den ganzen Bulbus gilt, trifft aber nicht für seine einzelnen Teile zu. Für die Untersuchung des feineren Baues der Iris und der Retina z. B. möchten wir die dünnen Paraffinschnitte nicht entbehren, ebensowenig für das Studium embryonaler Augen, bei denen das kollagene Gewebe noch nicht so reichlich entwickelt ist.

Um eine Bulbushälfte in Paraffin einzubetten, verfährt man folgendermassen:

1. Das vollkommen in Alkohol absol. entwässerte Präparat kommt, eventuell nach vorheriger Entfernung der Linse, in Chloroform-Alkohol. Zu diesem Zwecke bringt man mittelst einer Pipette auf den Boden des Glases, in welchem das Präparat sich in absol. Alkohol befindet, Chloroform. Dieses sinkt, da es schwerer ist als der absolute Alkohol, zu Boden, und das Präparat schwimmt an der Grenze beider Flüssigkeiten. Es treten jetzt Diffusionsströme ein zwischen dem Alkohol und dem Chloroform, und das Präparat sinkt zu Boden.

2. Nach ungefähr 24 Stunden giesst man beide Flüssigkeiten ab und ersetzt sie durch reines Chloroform. Dieses muss sehr gründlich eindringen, und man lässt das Präparat hierin auch mindestens 24 Stunden. Je gründlicher das Chloroform eindringt, um so weniger leicht schrumpft das Präparat.

3. Übertragung in eine gesättigte Lösung von weichem Paraffin (Schmelzpunkt ca. 42° C.) in Chloroform auf einige Stunden. Man stellt das Glas zur gelinden Anwärmung a u f den Paraffinofen.

4. Übertragung in geschmolzenes, weiches Paraffin, dessen Schmelzpunkt bei 42° C. liegt, auf 2 Stunden, und dann ebenso lange in ein härteres Paraffin, dessen Schmelzpunkt bei 58° C.

Die beiden Paraffinsorten werden in zwei emaillierten Blechschalen im **Paraffinofen**[1]) geschmolzen. Hierzu dient ein Kupferkasten mit doppelten Wandungen. Der Raum dazwischen wird mit Wasser oder Glyzerin gefüllt. Ein Regulator vermindert oder vermehrt den Gaszufluss, so dass eine constante Temperatur erzeugt wird. Die Temparatur im Wärmeschrank soll etwas höher sein als der Schmelzpunkt des Paraffins, also etwa 62° bis 63° C., damit nicht bei der geringsten Abkühlung, wie sie z. B. durch das Öffnen der Schranktür hervorgerufen wird, das Paraffin erstarrt. Die hohe Temparatur schadet dem Präparate nichts, wenn es nur vorher ordentlich entwässert und vom Alkohol befreit war.

Das Prinzip eines *Wärmeregulators* (nach L. Meyer) ist folgendes: Durch die Wärme wird ein abgeschlossenes Quantum einer Äther-Spiritusmischung ausgedehnt, welches auf eine Quecksilbersäule drückt. Wird die Temperatur höher, so verschliesst diese Quecksilbersäule die Gaszufuhr zur Flamme, so dass letztere kleiner wird und nur durch eine minimale Notöffnung von Gas gespeist wird. Fällt die Temperatur wieder, so sinkt auch die Quecksilbersäule, lässt die grosse Gaszufuhr frei, und die Flamme wird demgemäss grösser. Auf diese Weise wird die Temperatur stets constant gehalten. Um auf verschiedene Temperaturen einstellen zu können, ist das Gaszuführungsrohr in verschiedener Höhe verstellbar, bei den einfacheren Apparaten durch einfaches Verschieben, bei den besser ausgestatteten durch Schrauben zu bewirken. Es empfiehlt sich, zum Schutze des Glases und des Quecksilbers eine Metallschutzhülse zu benutzen.

Um ein kleines Retinastückchen einzubetten, braucht man natürlich kürzere Zeit als für die ganze Bulbushälfte: Das durch absoluten Alkohol (2 Stunden) wasserfrei gemachte, auf Kork (vergl. S. 27) aufgespannte Objekt wird im Alkohol mit Chlorofom unterschichtet, kommt dann auf ½ Stunde in Chloroform, auf 1 Stunde in Chloroform-Paraffin, und schliesslich auf je eine ¼ Stunde in weiches und hartes Paraffin.

Objekte, die dicker sind als die Retina (bis 5 mm), verbleiben in absol. Alkohol bis 24 Stunden, in Chloroform bis 4 Stunden, in Chloroform-Paraffin bis 6 Stunden, in Paraffin bis 5 Stunden.

Das Chloroform kann auch durch Zedernöl oder Xylol ersetzt werden. Letzteres eignet sich für feinere Netzhautstudien am wenigsten; es löst auch osmiertes Fett.

5. Einbettung. Ist das Objekt mit reinem Paraffin durchtränkt, so überzeugt man sich vor der Einbettung davon, dass das Paraffin kein Chloroform mehr enthält, denn die ge-

[1]) Bei Lautenschläger, Berlin, Chausseestr. 92, und Rohrbeck, Berlin, Karlstrasse 20a.

ringsten Spuren desselben können die Erhärtung des Paraffins beeinträchtigen. Zu diesem Zwecke taucht man eine heisse Nadel in das flüssige Paraffin: es dürfen keine Blasen von Chloroformdampf entstehen. Ist dies doch der Fall, dann wird das Präparat noch einmal in frisches Paraffin gelegt. Dann kann es in eine Form gegossen, eingebettet werden.

Als Form dienen zwei unter einem rechten Winkel gebogene Messingplatten, welche, je nachdem sie zusammengestellt werden, eine grössere oder kleinere Form geben. Dieselben werden auf eine Glas- oder Metallplatte aufgestellt. Um ein zu festes Anhaften des Paraffins zu vermeiden, bestreiche man die Form mit Glyzerin.

Für sehr kleine Objekte ziehe ich Uhrgläschen vor, die vor dem Eingiessen des Paraffins angehaucht werden, für grössere Objekte anstatt der Metallwinkel Papierkästchen, die man sich auf folgende Weise herstellen kann.

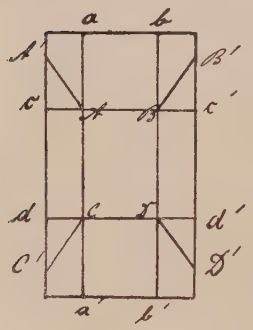


Fig. 1.

Man bricht zuerst ein rechteckiges Stück Schreibpapier in den Linien aa' und bb', dann cc' und dd' nach der gleichen Seite, dann legt man in jeder Ecke einen Bruch AA', BB', CC' und DD' an, indem man Ac auf Aa festhält und bricht, jedoch so, dass der Bruch nicht auf den Boden ABCD übergeht. Danach stellt man die vier Seiten des Kästchens auf und schlägt die an den kurzen Seiten überstehende Teile hinter diese um und knickt nun schliesslich den über den Rand des Kästchens emporstehenden Teil der kurzen Seite stark gegen den Boden zu um.

Das geschmolzene harte Paraffin wird in die Form gegossen und dann das Objekt mit Hülfe eines über der Spiritusflamme leicht erwärmten Blechspatels und einer Nadel in das Paraffin übertragen, wo es orientiert wird, d. h. mit der erwärmten Nadel in die Lage gebracht wird, in der es nachher geschnitten werden soll. Dann wartet man einen Augenblick, bis das Paraffin auf der Oberfläche ein Häutchen bekommen hat, was man eventuell durch Anblasen desselben befördern kann, und stellt schliesslich die ganze Form in Wasser von Zimmertemperatur. Der Block muss im Wasser bleiben, bis die Erstarrung des Paraffins vollzogen ist (½ Stunde oder länger). Kaltes Wasser wirkt häufig

schädlich, weil dadurch eine konkave Oberfläche, sowohl auf, als unter dem Block verursacht wird.

Nach der Erstarrung entfernt man das Papier und schneidet den Paraffinblock zurecht, indem man das überflüssige Paraffin so weit entfernt, dass nur ein schmaler 1—2 mm breiter Rand von Paraffin das eingeschmolzene Objekt umgibt. Man gibt dabei dem Paraffin die Gestalt einer vierseitigen kleinen Säule, deren Grundfläche ein rechtwinkeliges Viereck ist.

Der Paraffinblock wird dann auf einem zylindrischen Stückchen harten Holzes oder auf einem Metalltischchen (wie sie den Schanzschen Mikrotomen beigegeben werden) oder schliesslich auf einem Block von hartem Paraffin mit Hülfe eines erwärmten Skalpells angeschmolzen, zur rascheren Erstarrung auf einige Minuten in kaltes Wasser gelegt, und ist dann zum Schneiden fertig.

Um Retina nebst Chorioidea isoliert, d. h. ohne Sklera, und doch unter möglichster Erhaltung ihrer natürlichen Lagerung in Paraffin verarbeiten zu können, verfährt Herzog in der Weise, dass der fixierte und gehärtete Bulbus nach Abtragung der Hornhaut, Entfernung der Iris und Linse zunächst einmal vorläufig in Paraffin eingebettet wird, dann das Paraffin an der hinteren Fläche des Bulbus abgeschabt wird, darauf die Sklera abpräpariert, bzw. mit der Pinzette in zusammenhängenden Lamellen abgezogen wird, eventuell auch noch die Chorioidea abgeschabt wird, und dann das Präparat noch einmal eingebettet wird: Eintauchen in absol. Alkohol, Einbringen auf einer Platte in den Paraffinofen, Erwärmen, bis das im Präparat enthaltene Paraffin oben oberflächlich zu schmelzen anfängt, Einbettungsrahmen herumlegen und zum zweiten mal definitiv mit flüssigem Paraffin übergiessen. In gleich schonender Weise kann die Iris ohne Läsion durch die sonst bei der Herausnahme erforderlichen Manipulationen eingebettet werden, indem nach der ersten Einbettung die schwer schneidbare Sklera abpräpariert, bzw. abgezogen und das Präparat dann noch einmal eingebettet wird.

Paraffinschnelleinbettungen.

1. Anilinölparaffineinbettung (Lubarsch).

a) Die frischen Gewebstücke, deren Dickendurchmesser ½ cm nicht gut überschreiten darf, werden in ein weites Reagenzglas mit 10 pCt. Formaldehyd. sol. getan und auf 10—15 Minuten in den Paraffinofen von 50—53° gebracht. Die Flüssigkeit wird während dieser Zeit 1—2 mal gewechselt.

b) Übertragen in 90—95 proz. Alkohol auf 5—10 Minuten; einmaliges Wechseln der Flüssigkeit.

c) Die Stücke gelangen in absol. Alkohol auf 10 Minuten, zweimaliges Wechseln der Flüssigkeit.

d) Belassen in ganz klarem Anilinöl, bis die Stücke völlig durchsichtig, was je nach der Grösse in 10—30 Minuten erreicht zu sein pflegt.

e) Entfernen des Anilinöls durch Xylol; Wechseln des letzteren, bis er nicht mehr gelb wird (2—3 mal). Meist in 10—20 Minuten vollendet.

f) Einbetten in Paraffin, 10 Minuten bis 1 Stunde.

Auch bei b—f bleiben die Präparate im Paraffinofen bei 50—53°. Auf diese Weise ist Härtung und Einbettung kleiner Stückchen in 55 Minuten bis ca. 3 Stunden vollendet.

2. Acetonparaffineinbettung (Henke und Zeller).

a) Die frischen Gewebestückchen werden unmittelbar in ca. das 25 fache Volumen reinen Acetons in ein gut schliessendes Gefäss gebracht. (Das gebrauchte Aceton ist öfters verwendbar, wenn man es durch ausgeglühtes Kupfersulfat wieder wasserfrei macht). Meist genügt eine Härtungsdauer von ½—1½ Stunden.

b) Nach vollendeter Härtung kommen die Stückchen direkt in das flüssige Paraffin von 52—56° Schmelzpunkt in den Paraffinofen. Da der Siedepunkt des Acetons bei 56° liegt, verdampft dabei ein Teil des Acetons, was sich durch Blasenbildung bemerkbar macht. Die Zeitdauer des Verweilens in flüssigem Paraffin beträgt ½—1½ Stunden.

C) Kombinierte Celloidin-Paraffineinbettung.

soll die Vorteile, welche Celloidin- und Paraffineinbettung bieten, vereinigen und die Nachteile, welche beiden Methoden anhaften, vermeiden. Wir verwenden sie z. B. bei der Bearbeitung von Augenlidern, von Arthropodenaugen u. s. w. Nach Field und Martin bringt man das gut entwässerte Präparat für einige Stunden in absol. Alkohol und Toluol $\overline{aa}$. Dann kommen die Stücke für einige Stunden in folgendes Celloidinparaffingemisch: In einer Mischung von absol. Alkohol und Toluol wird Celloidin, das vorher mit ein wenig Toluol durchtränkt wurde, bis zur Konsistenz von Nelkenöl gelöst, dann Paraffin bis zur Sättigung bei einer Temparatur von 20—25° C. Von hier aus Übertragung der Stücke in mit Paraffin gesättigtes Chloroform, dann in gewöhnliche Paraffinlösung.

Nach der Paraffineinbettung Schneiden mit quer gestelltem Messer. Bei der Aufhellung sind alle Celloidinlösende Reagentien zu vermeiden, es sei denn, dass das Celloidin gelöst werden soll.

D. Einbettung in Photoxylin.

Das dem Celloidin chemisch nahe verwandte (sehr explosive!) Photoxylin wird ebenso wie dieses angewendet. Man stelle sich eine dünne und dicke Lösung in Alkohol-Äther $\overline{aa}$ her. Der Vorteil vor dem Celloidin besteht darin, dass es leichter löslich ist und nach der Härtung durchsichtig bleibt, aber es ist viel teurer als das Celloidin.

E. Einbettungsmasse nach Calberla-Ruge.

Der Hauptwert dieser Masse liegt darin, dass man Linsen verhältnismässig gut darin einbetten kann und sogar noch dünnere Schnitte damit bekommt, als mit Celloidin. Ein zweiter Vorteil ist der, dass der Einbettung eine Behandlung mit absolutem Alkohol nicht vorhergehen muss.

Die Einbettungsmasse wird auf folgende Weise hergestellt: Möglichst frische Hühnereier werden tüchtig verrührt, und zwar sowohl das Eiweiss,

wie der Dotter. Dann werden auf jedes Ei 7—8 Tropfen wasserfreien Glyzerins zugesetzt und, nachdem das Gemisch noch einmal lange und tüchtig verrührt worden ist, wird das Ganze durch ein feines Flanelltuch filtriert. Mit dem Filtrat wird das in Wasser gut ausgewaschene Präparat, welches in einer Papierschachtel mittelst Karlsbader Nadeln frei schwebend erhalten wird, übergossen und das Ganze dann im Wasserbade so lange Alkoholdämpfen ausgesetzt, bis die Masse fest geworden. Dies dauert bei dem Volumen, welches die Einbettung eines halben Auges erfordert, etwa 2 Stunden. Nach dem Erkalten werden die Nadeln herausgezogen, und wird das Ganze dann zum Nachhärten in 96 pCt. Alkohol aufbewahrt, bis die Masse der supponierten Konsistenz des Präparates einigermassen entspricht. Sieht man bei den ersten Schnitten, dass die erwünschte Härte noch nicht erreicht ist, so kann das Präparat ohne weiteres wieder in Alkohol gebracht werden, wie es auch monatelang ohne anderen Nachteil, als dass Masse und Präparat nachhärten, in Alkohol aufbewahrt werden kann. Das ausgeschnittene Präparat wird mit Gummi aufgeklebt, mit alkoholbefeuchtetem Messer geschnitten, gefärbt, entwässert, aufgehellt und in Kanadabalsam eingeschlossen. (Becker.)

F. Einbettung in Natronseife

könnte eventuell in Betracht kommen, wenn es sich um Einbettung von Präparaten handelt, die alkohol- und ätherlösliche Stoffe enthalten, also z. B. um Bulbi, die mit **Cholestearinkrystallen** durchsetzt sind. Da diese bekanntlich in Alkohol und Äther (namentlich bei erhöhter Temparatur) löslich sind, so ist eine Einbettung in Celloidin oder Paraffin unerwünscht. Döllken gibt für solche Zwecke eine Natronseifeneinbettung an: Für das Zentralnervensystem empfiehlt er besonders Rizinusseife, welche so dargestellt wird, dass in kochende 20—30 proz. Natronlauge Rizinusöl derart eingetragen wird, dass NaOH in geringem Überschuss vorhanden ist. Die Lösung muss noch einige Zeit kochen, dann lässt man sie erkalten und erstarren; die überschüssige Natronlauge wird aus dem Seifenkuchen ausgepresst.

Zur Einbettung benutzte Döllken eine 3—5 proz. Seifenlösung (bei 35—40° C.), in welcher die Organteilchen mit oder ohne Auswaschen aus der Fixierungsflüssigkeit (Formol) gebracht werden. Stehen lassen bei gleicher Temparatur (36—72 Stunden) in bedeckter Schale, dann eindunsten lassen bis zur Erstarrung. Aufgekittet werden die reichlich gross geschnittenen Blöcke mit Wasserglas auf Holz. Nach dem Eintrocknen wird mit trockenem Messer geschnitten, die Schnitte strecken sich beim Übertragen in Wasser glatt. Vor der Färbung wird die Seife durch Wasser gut ausgewaschen.

Literatur.

Becker. Zur Anatomie d. gesunden u. kranken Linse. 1883. — Döllken, Zeitschr. f. wiss. Mikr. XIV. 1897. — Elschnig, Zeitschr. f. wiss. Mikr. X. 1893. — Field-Martin, Zeitschr. f. wiss. Mikr. XI. 1894. — Henke u. Zeller, Zentralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. XVI. 1905. — Herzog, Encycl. d. mikr. Techn. II. Aufl. Art.: Auge. — Lee u. Mayer, Histol. Technik, II. Aufl. 1901. S. 114. — Lubarsch, Deutsch-med. Zeitschr. Jg. 29. Nr. 48. 1903. — Neu-

mayer, Zeitschr. f. wiss. Mikr. XXV. 1908. — Encycl. d. mikr. Techn. Art.: Celloidin. — Schiefferdecker, Behrens u. Kossel, D. Mikroskop u. d. Methoden d. mikrosk. Untersuch. 1889. — Scholz, Deutsch.-med. Wochenschr. Jg. 31. Nr. 11. 1905. — Wolfrum, Klin. Monatsbl. f. Augenh. Bd. 43. 2. S. 61. 1905.

VII. Anfertigung und Behandlung der Schnitte.

In Celloidin und Paraffin eingebettete Präparate werden mit dem **Mikrotom** geschnitten. Gute Mikrotome werden geliefert von Becker (Göttingen), Katsch (München), Jung (Heidelderg), Miehe (Hildesheim), Schanze (Leipzig). Beim Ankauf eines Mikrotomes achte man darauf, dass es 1. für Celloidin- und Paraffineinbettung gut eingerichtet ist, 2. dass die Objektklammer genügend gross, um ein eingebettetes Auge einklemmen zu können, und 3. dass der Messerschlitten genügend schwer, um beim Schneiden nicht auszuspringen.

Aus eigener Erfahrung kann ich die Schanzeschen Mikrotome, Modell B, und das Supportmikrotom, Modell C, empfehlen. Bei letzterem wird der Schlitten nicht mit der Hand gezogen, sondern vermittelst Schraube und Kurbel fortbewegt.

Bei diesen Mikrotomen ist der Klammerträger zur Orientierung des Schnittpräparates um 2, die Klammer selbst ausserdem noch um 1 Achse drehbar. Um den Apparat auch zum Schneiden von Paraffinpräparaten mit querstehendem Messer brauchbar zu machen, ist der Klammerträger so eingerichtet, dass er von der am Vertikalschlitten befestigten Achse abgenommen und so herumgedreht werden kann, dass die Objektklammer mehr nach der Mitte des Instruments zu stehen kommt.

Für die Untersuchung des Augapfels verdient noch besondere Berücksichtigung eine von Gotschau angegebene Mikrotomklammer, weil es mittelst derselben möglich ist, trotz der Krümmung der Hüllen des Bulbus grössere Abschnitte derselben, z. B. einen Quadranten einer Iris in eine Serie von Schnitten zu zerlegen, welche sämtlich gleiche Neigung zur Krümmungsachse zeigen, bezw. z. B. die Iris in genau meridionaler Richtung treffen. Im wesentlichen besteht das Eigentümliche der Vorrichtung darin, dass die Klammer um eine horizontale Achse mittelst einer Mikrometerschraube gedreht werden kann; durch Verschieben der Klammer auf jener Achse kann man den Krümmungsradius der Drehbewegung innerhalb gewisser Grenzen ändern[1]).

[1]) Bei Eugen Hartmann, Würzburg.

Um das Mikrotom vor Staub zu schützen, bedecke man es mit einem Holz- oder Glaskasten. Die Bahn, auf welcher der Messerschlitten gleitet, muss vollkommen rein sein; man putze dieselbe mit einem in Benzin getauchten Lappen und fette sie ein mit Vaselin oder mit Knochenöl 4 Teile, Petroleum 1 Teil.

Der Messerschlitten muss bei leichtem Anstosse mit der Hand die ganze Bahn gleichmässig durchlaufen.

Das **Gefriermikrotom** ist ein Instrument, das für feinere histologische Untersuchungen kaum zu gebrauchen ist, weil die sich bildenden Eiskristalle zu Zerreissungen führen, die beim Auftauen des Schnittes nicht ganz ausgeglichen werden. Beim Trocknen schrumpft dann das Präparat, und es kommt zu ausgedehnten Dislokationen. Das Gefriermikrotom wird hauptsächlich angewendet, wenn es sich um Schnelldiagnosen von Geschwülsten handelt und in den Fällen, wo eine Alkoholbehandlung unangebracht ist, also bei Untersuchungen auf Fett, Cholestearin etc. Auch für die Gestaltsbestimmung der Linse hat es sich als brauchbar erwiesen.

Man nimmt am vorteilhaftesten einen Gefrierapparat, der sich an jedem Mikrotom anbringen lässt. Er besteht im wesentlichen aus einer gerieften Metallplatte, gegen deren untere Fläche ein Ätherspray wirkt. Anstelle des Äthers wird auch Chloräthyl oder Anästhol[1]) empfohlen. Für grössere Laboratorien sind am ökonomischsten und praktischsten die Kohlensäure-Gefrier-Apparate. (Jung, Heidelberg und Becker, Göttingen). Die aus einem gusseisernen Zylinder mit grosser Gewalt ausströmende Kohlensäure wird in ein Röhrensystem, den eigentlichen Gefrierapparat, gebracht, dessen starke metallene Wandung durch die Verdunstung der freigewordenen CO_2 schnell abgekühlt wird. Ein auf diese Gefrierkammer aufgelegtes Gewebsstück gefriert in kurzer Zeit. Der Apparat funktioniert absolut sicher, während man bei den älteren Äther-Mikrotomen wegen eingetretener Verstopfung der feinen Röhrchen oft nicht weiter arbeiten kann.

Das Gefrierverfahren lässt sich sowohl an frischen Objekten, als auch an fixierten anwenden, und schliesslich auch an Celloidinblöcken, die vorher gründlich ausgewässert sind. Die besten Resultate erhält man nach einer kurzen Vorhärtung in 10 proz. Formol (1—2 mm dicke Gewebsstücke ½—1 Stunde). Das Präparat wird nach ½—1 stündigem Wässern auf die Metallplatte gelegt und mit

[1]) Zu beziehen durch Speyer u. Karger. Berlin, Lothringerstr. 41.

einem Skalpelstiel leicht angedrückt, bis es angefroren ist. Eventuell kann man noch einen Tropfen Wasser oder flüssigen Leim zwischen Objekt und Metallplatte bringen. Präparate, die in Alkohol gelegen haben, müssen von demselben durch gründliches Auswässern (12—24 Stunden) vollkommen befreit sein. Man kann die Auswässerung beschleunigen durch Anwendung von warmen Wasser (ca. 30°).

Man achte darauf, dass das zu schneidende Objekt nicht dicker als 3—5 mm ist. Dasselbe muss vollständig durchfrieren, darf aber nicht zu hart sein, weil sonst das Messer nicht fasst. Das Messer soll das Präparat an einer Ecke, nicht von einer ganzen Seite aus fassen. Weder Messer noch Objekt ist beim Schneiden zu befeuchten.

Die Schnitte werden vom Messer zunächst in Spiritus 80 proz. und dann in Wasser gebracht. Schliesslich Färbung.

Besondere Sorgfalt ist auf die **Mikrotommesser** zu legen. Die vorzüglichsten liefert W. Walb in Heidelberg. Man halte sich am besten zwei Mikrotommesser, eins für Celloidinschnitte, plankonkav geschliffen und eins für Paraffinschnitte, plan geschliffen. Die **Schnittdicke** ist bei Celloidinpräparaten gewöhnlich 15—25 μ, bei Paraffinpräparaten 5—10 μ. (Bei Golgi- und Methylenblaupräparaten 50 μ und dicker.)

Die Anfertigung und Behandlung der Schnitte gestaltet sich bei Celloidin- und Paraffinpräparaten verschieden.

A. Celloidinpräparate.

Zum Schneiden von in Alkohol aufbewahrten Celloidinpräparaten stelle man das Messer in einem zur Längsachse des Mikrotoms möglichst spitzen Winkel fest, um die ganze Klinge möglichst auszunutzen. Man befeuchte das Präparat und das Messer mit 70 proz. Spiritus, den man mit einem Pinsel nach jedem zweiten oder dritten Schnitte aufträgt, und schneide in sanftem, kontinuierlichen Zuge, ohne Druck und ohne Absetzen. Die Schnitte werden mit einem Pinsel oder mit einer spitzen Pinzette von der Messerklinge abgehoben und in eine Schale mit 70 proz. Alkohol übertragen, wo sie beliebig lange Zeit verweilen können, um schliesslich gefärbt, entwässert, aufgehellt und eingeschlossen zu werden.

Dünnere Schnitte kann man erhalten, wenn man auf die Schnittfläche des Präparates mit einem Pinselchen jedesmal etwas dicke Celloidinlösung aufstreicht und diese etwas verdunsten lässt.

Man vermeide es, Celloidinschnitte mit absolutem Alkohol zu behandeln, da dieser Celloidin löst. (96 proz. Alkohol ist dagegen unschädlich.) Aus demselben Grunde dürfen gewisse Öle (Nelkenöl) nicht zur Aufhellung der Schnitte benutzt werden.

Zum Schneiden von Celloidintrockenpräparaten ist senkrechte oder nur ganz leicht schräge Messerstellung erforderlich. Am besten ist kurzes, dickes, nicht hohlgeschliffenes Messer (Eismesser). Ausserdem ist ein stabiles Jung sches Mikrotom von besonderem Vorteile für diese Methode. Anzuraten, aber nicht erforderlich, ist der Gebrauch einer Messerbrücke, die das geringste Fibrieren des Messers verhindert. Geschnitten wird ohne Zusatz von irgend welchen Flüssigkeiten. Schneidet man vorderen Bulbusabschnitt, so bricht man die Linse am besten, nachdem sie ein Stück weit angeschnitten ist, mit einem spitzen Instrumente heraus. Die Kapsel bleibt stets zurück. Die Celloidinblöcke dürfen niemals in Berührung mit Alkohol kommen, da durch dessen Wassergehalt eine sofortige Trübung des Blockes eintritt.

Die Schnitte, die man am besten gleich dutzendweise herunterschneidet, bleiben stark zusammengefaltet auf dem Messer liegen. Man nimmt sie mit den Fingern weg und wirft sie in 85 proz. Alkohol, wo sie sich sofort glatt auslegen. Am besten wechselt man den Alkohol später nochmals, um sämtliches Öl zu entfernen.

Es schadet den Blöcken nicht, wenn dieselben einige Stunden, ohne weiter geschnitten zu werden, oder auch einen Tag im Mikrotom eingespannt bleiben. Will man dieselben länger aufheben, so gibt man sie am besten in ein geschlossenes Gefäss, auf dessen Boden einige Millimeter Zedernholzöl ausgegossen sind (Wolfrum).

B. Paraffinpräparate.

1. Schneiden.

Beim Schneiden von Paraffinpräparaten kann man eine quere oder eine schräge Messerstellung anwenden. In beiden Fällen wird trocken, ohne Befeuchtung des Messers, geschnitten.

Die quere Messerstellung ist angebracht bei ganz kleinen Objekten und bei Anfertigung von Bänderschnitten (vergl. Serienschnitte).

Die schräge Messerstellung ist angebracht bei grossen Objekten von ungleichem Gefüge. Das Messer soll einen Winkel von 45° mit der Achse des Instrumentes bilden und zuerst

eine Kante des Paraffinblockes treffen. Der Messerschlitten ist langsam, ohne Druck, zu bewegen. Nach Rawitz schneidet man den Paraffinblock in Gestalt eines Dreiecks zurecht und richtet das Präparat so zum Messer, dass letzteres beim Durchziehen eine der Seiten voll trifft. Die Hauptsache bei diesem Schneiden ist die, dass das Messer zuletzt auf einen spitzen Winkel des Paraffinblocks und nicht auf eine Seite trifft; in letztem Falle nämlich lässt sich der Schnitt schwer und häufig nicht unverletzt vom Messer abheben, im ersteren Falle dagegen gelingt das sehr leicht, da die Berührung von Schnitt und Scheide nur an einem Punkte statthat.

Beim Schneiden von Paraffinobjekten hat man oft mit gewissen **Übelständen** zu kämpfen. So rollen sich z. B. die Schnitte, namentlich wenn sie etwas dicker sind, leicht auf. Um dieses zu vermeiden, hat man sogenannte Schnittstrecker konstruiert, die aber entbehrlich sind. Durch Nachhülfe mit einem weichen Haarpinsel oder durch Anhauchen des Objektes und der Messerklinge kann man das Rollen der Schnitte vermeiden. Am besten strecken sich die Schnitte, wenn man sie auf ein warmes Wasserbad (40—50°) in geräumiger Schale bringt; die Temperatur des Bades muss natürlich niedriger sein als der Schmelzpunkt des verwendeten Paraffins.

Das Gelingen der Schnitte ist in hohem Grade abhängig von der äusseren Temperatur. Ist das Paraffin zu hart, und bröckeln die Schnitte, was namentlich leicht eintritt, wenn man mit einem kalten Messer schneidet, so arbeite man in der Nähe des Ofens oder bei nahegerückter Lampe oder erwärme das Messer leicht über einer Spiritusflamme.

Um bei hoher Temperatur zu schneiden, hat man sogenannte Kühlmesser konstruiert, Messer, welche nahe dem Rücken der Länge nach durchbohrt sind. Durch die so gebildete Röhre wird Eiswasser durchgeleitet. Wenn das Paraffin infolge zu hoher Zimmertemperatur zu weich ist, kann man sich auch dadurch helfen, dass man das eingespannte Paraffinstück mit einem mit Äther getränkten Stückchen Watte umwickelt (Böhm und Oppel) oder es in kaltes Wasser legt. Ist das Paraffin zu weich, so falten sich die Schnitte leicht und werden zusammengedrückt.

Gegen die Brüchigkeit der Paraffinschnitte hat v. Davidoff vorgeschlagen, jedesmal, bevor man einen Schnitt macht, die Fläche des Paraffinblockes mit Kollodium zu bestreichen und

nach dem Erstarren zu schneiden. Zu gleichem Zwecke macht man sich nach Heider eine Mischung von käuflichem Kollodium und einer syrupdicken Lösung von Mastix zu gleichen Teilen und verdünnt sie mit einem Gemisch von Äther und Alkohol $\overline{aa}$ so, dass sie wasserdünn wird. Diese Mastixkollodiumlösung streicht man jedesmal vor dem Schneiden mit einem feinen Haarpinsel über die Schnittfläche und schneidet nach dem Erstarren.

2. Aufkleben.

Hat man die Schnitte hergestellt, so müssen dieselben, um sie während der dann folgenden Behandlung vor mechanischen Angriffen möglichst zu schützen, auf den Objektträger oder auf das Deckgläschen aufgeklebt werden. Das Aufkleben bietet auch den Vorteil, dass man eine grosse Anzahl von Schnitten zugleich und daher rascher und gleichmässiger behandeln kann. Unerlässlich ist das Aufkleben bei Anfertigung von Schnittserien und für Rekonstruktionsmethoden.

Methoden, welche ermöglichen, das, was nur bei Betrachtung mehrerer Schnitte nacheinander gesehen werden kann, in einem Bild (Zeichnung oder plastisches Modell) zu vereinigen, nennt man Rekonstruktionsmethoden. Am meisten kommt die Platten-Modelliermethode nach Born in Betracht: Von einer lückenlosen Serie wird jeder Schnitt vergrössert aufgezeichnet und auf einer Wachsplatte (Modellierplatten nach Strasser-Born bei Grübler u. Co. Leipzig erhältlich), deren Dicke das Ebensovielfache der Schnittdicke sein muss, wie die Flächenvergrösserung beträgt, ausgeschnitten. Durch genaues Zusammenfügen der Wachsplatten muss ein in allen Dimensionen gleichmässig vergrössertes Modell entstehen. Näheres vergl. Böhm, Taschenb. d. mikroskop. Technik. Peter, Die Methoden der Rekonstruktion, Jena 1906, und den Artikel „Plast. Rekonstrukt." in der Encyklop. d. mikrosk. Technik. Neumayer, Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 24. 1907.

Als **Objektträger** brauchen wir zwei Sorten, das gewöhnliche englische Format, 76 mm lang, 26 mm breit, und für grössere Objekte, wie Durchschnitte durch den ganzen Bulbus, das Leipziger Format, 70 mm lang, 35 mm breit. Anstelle des letzteren kommen wir auch gewöhnlich mit einem etwas kleineren (und billigeren) Objektträger in der Grösse 32×62 aus. Objektträger aus grünlichem Glase, deren Farbe man übrigens nur dann wahrnimmt, wenn man sie vom Rande her betrachtet, sind ebenso gut zu gebrauchen, wie die aus rein weissem Glase hergestellten. Man vermeide nur zu dicke Objektträger, wie die aus Spiegelglas angefertigten es zu sein pflegen. Objektträger, deren Ränder abgeschliffen sind, sind fast doppelt so teuer wie die scharf-

kantigen. Durch zwei- oder dreimaliges Hin- und Herstreichen auf einer mit nassem Schmirgel bedeckten Kupfer- oder Glasplatte kann man die Kanten abtragen, worauf der Objektträger sofort abgespült wird, um den anhaftenden Schmirgel zu entfernen.

Auch **Deckgläschen** halte man sich in mehreren Grössen vorrätig: Zu empfehlen sind nur die grösseren Sorten von 22 mm □ und die rechteckige Form 25 × 30 mm. Die kleine Form von 18 mm. Seitenlänge benutze man bei Kanadabalsameinschluss überhaupt nicht, um eine Oxydation der Präparate zu verhindern (vergl. Kanadabalsam).

Um die Objektträger und Deckgläschen zu reinigen, wäscht man sie unter der Wasserleituug auf beiden Seiten gründlich mit Seife ab. Umgebrauchte Objektträger zu reinigen, legt man sie einige Tage in Xylol und putzt sie dann ab; oder man kocht sie unter dem Abzug in 10 proz. Lysollösung und spült das Gefäss längere Zeit mit fliessendem Wasser durch.

Zum Halten der Deckgläser dienen die verschiedenen Modifikationen der Cornet'schen Pinzette. Die Branchen derselben sind übers Kreuz gebogen und fixieren das Deckglas so, dass es während der verschiedenen Manipulationen nicht mit den Fingern berührt zu werden braucht.

Das Signieren der Präparate auf dem Objektträger geschieht mittelst eines gelben Kreidestiftes (A. W. Faber), eines Schreibdiamanten oder auch mit gewöhnlicher Tinte oder Tusche. Für schwarze Schrift empfiehlt sich die Benutzung chinesischer Tusche, für weisse Schrift das Kremser Weiss unter Anwendung von Soenneckens Zeichenfeder Nr. 144, resp. eine Wasserglastinte, aus Wasserglas und chinesischer Tusche oder Kremser Weiss bestehend. Eine durch starkes Reiben wieder entfernbare Glastinte erhält man nach Unna durch Mischen von Zinc. oxyd. 7,5 g, Gelatine 7,5 g und dest. Wasser 15 g.

Um ein Abspringen der gewöhnlich benutzten gummierten Papier- oder Kartonetiketten zu verhindern, benutze man folgendes Klebemittel: 120 g Gummi arab. werden in wenig Wasser gelöst, ebenso 30 g Tragant, dann gemischt und durch feine Leinwand filtriert. Dann setzt man 150 g Glyzerin zu, in dem 2.5 g Thymianöl gelöst sind, und verdünnt mit Wasser auf 1000. Aufbewahren in gut verschlossenen Flaschen.

Zum Aufkleben der Paraffinschnitte sind zahlreiche Methoden empfohlen worden. Am praktischsten bewährt hat sich das Aufkleben mit Wasser (Spiritus) und mit Eiweissglyzerin.

Um die Grösse des Deckglases völlig ausnützen zu können, zeichnet man die Konturen desselben auf ein Stück weisses Papier und legt den Objektträger darauf. Dieses ist natürlich überflüssig, wenn man die Präparate auf das Deckglas aufklebt.

Letzteres ist aber nicht so praktisch wegen der leichten Zerbrechlichkeit der Deckgläschen.

a) Aufkleben mit Wasser (Spiritus).

Der sorgfältig mit Seife gereinigte und entfettete Objektträger wird mit Wasser oder sehr verdünntem Spiritus gleichmässig benetzt (ein Zusammenfliessen des Wassers zu einzelnen grösseren Tropfen lässt sich dadurch vermeiden, dass man den Objektträger mit der zu beschickenden Seite nach unten zwei- bis dreimal durch eine nicht leuchtende Flamme zieht (H e l l y)) und die Paraffinschnitte, eventuell ein Stück des Schnittbandes, darauf ausgebreitet. Dann erwärme man den Objektträger leicht über der Spiritusflamme, wobei sich die Schnitte glatt legen (das Paraffin darf nicht schmelzen!), sauge die überschüssige Flüssigkeit mit Filtrierpapier ab, ordne die Schnitte definitiv mit Pinsel und Nadel, und lasse die Schnitte 24 Stunden lang bei 35° C. trocknen (etwa a u f dem Paraffinofen).

Will man schneller arbeiten, so kann man die Schnitte mit Fliesspapier fest auf den Objektträger andrücken und leicht über der Flamme erwärmen, bis das Paraffin eben anfängt, etwas durchscheinend zu werden.

Handelt es sich nicht um Serienschnitte, so kann man die Paraffinschnitte direkt vom Mikrotom in eine Schale mit lauwarmen Wasser (45° C.) übertragen. Hier breiten sie sich glatt aus, und man fängt dieselben dann direkt mit dem Objektträger aus dem Wasser auf und lässt sie auftrocknen.

Das Festhalten der Schnitte beruht wohl nicht nur auf Capillar-Attraktion, wie man früher annahm, sondern es scheinen auch chemische Prozesse „durch die in Wasser enthaltenen chemischen Faktoren bewirkte Lösung kleinster Spuren des Glases und nachheriges Auskristallisieren derselben“ dabei eine Rolle zu spielen. (G u d e r n a t s c h.)

b) Aufkleben mit Eiweissglyzerin,

sogenannte „Japanische Methode“ (R e i n k e).

Das Eiweiss eines frischen Hühnereies wird zu Schnee geschlagen, filtriert, und zum Filtrat die gleiche Menge Glyzerin gegeben. Um eine Zersetzung des Eiweisses zu verhüten, füge man noch ein Stückchen Kampfer oder Natriumsalicylat hinzu. —

Von dem Glyzerineiweissgemisch verreibt man eine Spur möglichst fein mit der Fingerspitze auf dem Objektträger und

erwärmt denselben über einer Flamme oder besser im Thermostaten bei 70°, um das Eiweiss zu koagulieren. Auf den abgekühlten Objektträger giesst man dann destilliertes Wasser auf, bringt die Schnitte hinein, erwärmt vorsichtig, ohne das Paraffin zu schmelzen, bis sich die Schnitte faltenlos ausgebreitet haben, und trocknet im Thermostaten bei 30—35° C., oder a u f dem Paraffinofen einige Stunden lang.

c) Aufkleben mit Aceton-Schiessbaumwolle (A l t m a n n).

eignet sich für sehr feine Schnitte, deren einzelne Partikel nur lose untereinander zusammenhängen, z. B. Linsen. (H a l b e n.)

Die Objektträger werden mit einer Traumaticinlösung (die käufliche Lösung im Verhältnis 1: 25 mit Chloroform verdünnt) übergossen, abgetropft und lufttrocken gemacht. Dann werden sie über dem Bunsenbrenner stark erhitzt, bis zum Auftreten des charakteristischen Guttaperchageruches. Die so vorbereiteten, mit einer dünnen Guttaperchaschicht überzogenen Objektträger lassen sich aufbewahren.

Die Paraffinschnitte werden auf ihnen angepinselt mit folgender Flüssigkeit: 2 g Schiessbaumwolle in 50 ccm Aceton gelöst; 5 ccm der Lösung mit 20 ccm absol. Alkohols verdünnt.

Die angepinselten Schnitte werden mit Fliesspapier unter starkem Druck angepresst (nicht streichen, wirklich drücken!). Man muss aber beim Schneiden dafür sorgen, dass die Schnitte möglichst glatt abkommen. Gelingt dies nicht, so muss man die Streckung auf dem Objektträger mit einer Nadel unter vorsichtiger Erwärmung vornehmen. Nachdem man so die Schnitte nur eben leicht angeweicht hat, lässt man das Aceton von der Seite zutreten; es durchtränkt den Schnitt noch gerade so gut wie ohne Erwärmung, nur fangen sich leicht Luftblasen zwischen Schnitt und Träger, die aber durch kräftiges straffes Überpinseln zu entfernen sind. Auch kann man ihre Entstehung vermeiden, wenn man unter Anweichung über der Flamme nur gerade einen Rand des Schnittes glatt gegen den Träger drückt und von hier aus den leicht gewärmten Schnitt im ganzen flach legt, ohne ihn doch gegen den Träger zu drücken, also ihn gewissermassen in der Luft oben über dem Träger streckt. Dann lässt man die Aceton-Schiessbaumwolle von dem angedrückten Rande aus zutreten und pinselt energisch von ihm aus über die Fläche.

So aufgeklebte Schnitte vertragen alle Prozeduren der Färbung, nur muss man absol. Alkohol vermeiden, da dieser die Aceton-Schiessbaumwolle löst. Man entfernt daher das Paraffin durch Xylol, und dieses durch 96 proz. Alkohol.

3. Paraffinbefreiung.

Bevor die so aufgeklebten Schnitte gefärbt werden können, ist es nötig, dieselben vom Paraffin zu befreien. Zu diesem Zweck stellt man den Objektträger auf einige Minuten in ein Gläschen mit Xylol. (Zylinderförmige Gläser eignen sich hierzu, wie für alle ferner vorzunehmenden Manipulationen für die Färbetechnik

auf dem Objektträger besser, als die viereckigen Färbekästchen, weil das aufgeklebte Präparat bei diesen nicht mit den Wandungen des Glases in Berührung kommen und dadurch geschädigt werden kann).

Aus dem Xylol bringt man den Objektträger mit dem jetzt von Paraffin befreiten Präparat in ein anderes Gläschen mit absolutem Alkohol, um das Xylol auszuziehen, und dann können die Schnitte gefärbt werden. Kommen wässerige Farblösungen zur Verwendung, so bringe man die Schnitte aus dem absoluten Alkohol, zunächst in 90 proz., dann in 60 proz., dann in Wasser, und schliesslich in die Farbstofflösung.

Serienschnitte.

Will man einen Bulbus oder einen Sehnerven in eine fortlaufende Serie von Schnitten zerlegen und diese vielen Schnitte auf einmal behandeln, so kann man sich folgender Methoden bedienen:

A. Serienschnitte von Celloidinpräparaten.

Die Herstellung von Reihen- oder Serienschnitten für Celloidinpräparate ist mit gewissen Schwierigkeiten verknüpft und gestaltet sich nicht annähernd so einfach wie die Anfertigung von Paraffinschnittserien. Schon die grosse Anzahl der fortwährend neu vorgeschlagenen Methoden lässt erkennen, dass es eine wirklich zuverlässige und praktische Methode noch nicht gibt. Wir können 3 Gruppen von Methoden unterscheiden, die wir kurz die Lappenmethoden, die Klebemethoden und die Schalen- oder Napfmethoden nennen wollen.

1. Lappenmethoden.

Man versteht darunter eine Gruppe von Methoden, bei welchen die Schnitte zu einer grösseren Lamelle oder zu einem Lappen vereinigt werden, um dann im Zusammenhange von der Unterlage losgelöst und gleichzeitig in die verschiedenen Reagenzien überführt werden zu können.

a) Weigert'sche Collodiummethode.

Die Schnitte werden mit Streifen von ungeleimten Papier (Klosetpapier oder satiniertes Seidenpapier), etwas breiter als die Präparate vom Messer abgenommen, indem man die Papierstreifen auf die Schnitte legt und nacheinander, Schnitt für Schnitt, auf eine mit 70 proz. Alkohol befeuchtete Lage von Fliesspapier gelegt. Hat man eine genügende Anzahl von Schnitten in der gewünschten Reihenfolge auf dem Papier erhalten,

so übergiesse man eine sauber geputzte Glasplatte, deren Grösse sich nach der Ausdehnung der Schnittserie und nach der Grösse der Schnitte richtet, mit dünnflüssigem Kollodium. Indem man die Platte an einer Ecke wagerecht vor sich hält, giesst man auf die Mitte derselben eine genügende Menge Kollodium und lässt dasselbe dann durch Neigen der Platte nach den Ecken derselben laufen. Wenn die Kollodiumschicht trocken geworden ist, legt man auf dieselbe die Schnittstreifen, indem man die Streifen Klosetpapier mit den Präparaten nach unten auf die Kollodiumschicht vorsichtig andrückt. Die Strefen werden nun vorsichtig abgezogen, während die Schnitte an der Kollodiumfläche haften bleiben. Dieselben dürfen nicht eintrocknen und müssen deshalb mit 70 proz. Spiritus feucht gehalten werden. Man giesst dann über die Schnitte ein zweites Mal Kollodium, nachdem man den überflüssigen Spiritus durch Absaugen mittels Fliesspapier entfernt hat, lässt auch diese Kollodiumschicht einige Minuten trocknen, und bringt dann die Platte samt den Schnitten entweder in 80 proz. Alkohol zum Aufbewahren, oder direkt in die Farbflüssigkeit, wo die Schnitte mit der Kollodiumschicht sich leicht von der Glasplatte ablösen und nun mit einander weiter behandelt werden können. Nach geschehener Entwässerung und Aufhellung in Karbolxylol schneidet man die Kollodiumplatte unter Wasser mit der Scheere beliebig zurecht.

Diese meistgebrauchte Methode hat den grossen Nachteil, dass die Schnitte zwischen zwei Collodiumschichten eingeschlossen sind, so dass der Zugang der Farbflüssigkeiten zu den Schnitten erschwert ist.

b) Die Dimmersche Modifikation.

ist frei von diesem Übelstand. Man bestreicht die Glasplatten mit einer Lösung von 16 g Gelatine in 300 ccm warmem Wasser, lässt staubfrei trocknen (meist 2 Tage), drückt die Schnitte wie bei dem Weigertschen Verfahren auf und hält sie mit 70 proz. Alkohol feucht. Dann Abtrocknen und Übergiessen mit: Photoxylin 6,0, Alkohol absol. und Äther $\frac{}{aa}$ 100. Antrocknen lassen und einlegen in Wasser von 50—55°, nachdem man die Photoxylinschicht am Rande eingeritzt hat, um das Eindringen des Wassers zu begünstigen. In dem so losgelösten Häutchen sind die Schnitte nur von einer Seite überzogen, so dass die Farbflüssigkeiten leichter Zugang zu den Schnitten haben.

Dasselbe ist der Fall bei der

c) Methode von Obregia.

Man begiesst die gereinigten Glasplatten mit

Lösung I.	Kandiszuckerlösung (1 : 1)	300 ccm
	Alkohol (80 proz.)	200 „
	Dextrinlösung (1 : 1)	100 „

Zur Dextrinlösung ist gelbes Dextrin zu benutzen.

Nach staubfreiem Trocknen werden die Präparate wie bei den anderen Methoden aufgeklebt und mit

Lösung II.	Photoxylin oder Celloidin	10,0 g
	Alkohol absol.	100 ccm
	Äther	500 „

übergossen. Den Überschuss der Lösung, der nicht weiter verwertet werden darf, giesst man weg. Man legt die Glasplatte wagerecht, wartet, bis die milchige Trübung in der Umgebung der Schnitte geschwunden ist und legt die Tafel in eine Schale mit Wasser. Hier löst sich der Zucker auf und das Photoxylinblatt hebt sich ab.

Die einzelnen Blätter numeriert man sich durch einen mit einer Marke versehenen Faden, den man durch eine Ecke des Photoxylinblattes führt.

Die in dem Photoxylin- oder Celloidinhäutchen eingeschlossenen Schnitte werden dann gefärbt, in 96 proz. Alkohol oder in einem Gemisch von Alkohol absol. 2 Teile und Chloroform 1 Teil entwässert und in Karbolxylol aufgehellt. Schliesslich schneidet man die einzelnen Schnitte heraus, bringt sie der Reihe nach auf numerierte Objektträger und schliesst sie in Kanadabalsam ein.

2. Klebemethoden.

Man versteht darunter diejenigen Verfahren, bei welchen die Schnitte auf dem Objektträger angeklebt und wie die Paraffinschnittserie mit diesem in die verschiedenen Reagenzien übergeführt werden.

a) Methode von Olt.

Dieselbe gestattet ein direktes serienweises Aufkleben aller mikroskopischen Schnitte (Celloidin-, Paraffin-, Gefrierschnitte), die dann den kompliziertesten Färbungen unterworfen werden können.

In 100 ccm Wasser werden 10 g Gelatine im Wasserbad gelöst und mit dem Eiweiss eines Hühnereies versetzt, damit nach weiterem Kochen unter Umrühren der Mischung alle Verunreinigungen durch das gerinnende Eiweiss ausgefällt werden. Das Filtrat der Mischung muss vollkommen klar sein und ist mit 10 ccm einer 5 proz. Phenollösung zu versetzen. Die so gewonnene, leicht erstarrende Phenolgelatine ist in einem weithalsigen Gefäss unter

staubdichtem Verschluss aufzubewahren und in dieser Form Monate lang gebrauchsfähig.

Mit dieser Gelatine werden die Schnitte aufgeklebt, und die Objektträger hierauf einige Stunden Formoldämpfen ausgesetzt oder gleich nach dem Erstarren der Gelatine in 4—10proz. Formalinlösung gebracht. Das Formol verbindet sich mit der Gelatine zu einer unlöslichen Masse, welche in dünner Schicht vollkommen wasserklar ist. Die so aufgeklebten Schnitte haften der Glasplatte fest an.

Das Verfahren gestaltet sich für Celloidinpräparate folgendermassen:

Ein linsengrosses Stückchen Phenolgelatine wird auf einer Messerklinge durch Erwärmen verflüssigt und mit dem Finger über die Fläche der Objektträger verteilt. Durch sofortiges Überstreichen mit dem Daumenballen ist alle überschüssige Gelatine so abzustreichen, dass nur eine sehr dünne, kaum sichtbare und sofort trocknende Schicht zurückbleibt. In dieser Weise kann ein Vorrat von Objektträgern bestrichen und beliebig lange gebrauchsfähig aufbewahrt werden. Die Celloidinschnitte werden aus Alkohol auf die zu beschickenden Objektträger gelegt, reihenweise geordnet und mit Fliesspapier von der Flüssigkeit durch Andrücken befreit. Schnitte, die sich nicht glatt angelegt haben, sind mit Alkohol zu betupfen und durch erneute Versuche mit Fliesspapier glatt zu drücken. Hierauf wird ein dünner Papierstreifen in 10 proz. Formollösung getaucht, auf die Schnitte gelegt, und mit einem zweiten Objektträger angedrückt. Nach wenigen Sekunden haften die Celloidinschnitte der Unterlage so an, dass sie in anderen Flüssigkeiten beliebig weiter behandelt werden können. Wird besondere Vorsicht erheischt, dann bringt man die Schnitte noch auf einige Minuten oder beliebig länger in ein Standgefäss mit 10 proz. Formollösung (1 Teil Formalin, 40 proz. Formollösung, auf 3 Teile Wasser). Schnitte, die viel fibrilläres Bindegewebe enthalten, werden zweckmässig einige Minuten mit dem Formol getränkten Papierstreifen beschwert. Derartig behandelte Hautschnitte z. B. quellen bei nachträglicher Behandlung im Wasser nicht und werfen wie sonst keinerlei Falten.

Derselbe Effekt ist auch zu erzielen, wenn nach kurzem Andrücken mit dem Formol getränkten Papierstreifen das Präparat in einem verschlossenen Standgefäss, dessen Boden mit Formalin bedeckt ist, mindestens eine Stunde Formalindämpfen ausgesetzt und dann in wässerige Formollösung gebracht wird.

Während der Weiterbehandlung des Präparates kann auch das Celloidin in Äther-Alkoholmischung gelöst werden, ohne dass im geringsten ein Loslösen der Schnitte zu befürchten ist.

Die Methode ist auch für in Celloidin-Paraffin eingebettete Schnitte zu verwerten, aus denen das Paraffin durch Benzol ausgezogen wird.

Die Methoden von (Weigert), Dimmer, Obregia, Olt sind bei einer Schnittdicke von über 20 μ zu empfehlen; für dünnere Schnitte eignen sie sich weniger gut. Dafür ist zu empfehlen:

b) die Methode von Rubaschkin-Dantschakoff.

Die unter Anwendung von 55—60 proz. Alkohol angefertigten Schnitte werden auf dem mit Glyzerin-Eiweiss 1:2 bestrichenen Objektträger aufgeklebt. Man lässt die einzelnen Schnitte am besten auf dem Messer liegen, bis eine genügende Zahl derselben hergestellt ist; von hier kommen dieselben der Reihe nach auf den mit Eiweiss beschickten Objektträger, das am besten nicht mit der Fingerbeere, sondern mit einem reinen Stück Leinen ausgebreitet und fast ganz wieder abgewischt wird. Ist eine genügende Anzahl von Schnitten unter Verwendung von möglichst wenig Alkohol aufgelegt und geglättet, so wird der überschüssige Alkohol entfernt und die Schnitte mit 4 fach zusammengefaltetem schwedischen Filtrierpapier fest angedrückt, eine Mischung von 2 Teilen Nelkenöl und 1 Teil Anilinöl (oder nach Maximow besser reines Anilinöl) aufgeträufelt und nach dem Aufhellen abgegossen. Man presst nun die Schnitte an das Glas (Vorsicht! da dabei mitunter infolge der Weichheit des gequollenen Celloidins Gewebsstücke abreissen), bringt den Objektträger in 96 proz. Alkohol, der zweimal erneuert wird, dann in absoluten Alkohol und Aether sulf., worauf nach dem Lösen des Celloidins durch absoluten Alkohol, 96 proz. und 75 proz. Alkohol in Wasser übergeführt wird, worauf alle beliebigen Färbungen vorgenommen werden können.

3. Schalen- oder Napfmethoden.

a) Die Umständlichkeit aller dieser angeführten Methoden lässt es begreifen, dass viele es vorziehen, zum Sortieren und Färben von Serienschnitten eine Reihe von hintereinander gesetzten Schälchen zu benutzen, von denen jedes einen Schnitt aufnimmt.

Porzellanplatten mit einer Menge von Vertiefungen (Leber), oder Glaskasten, die in eine grosse Anzahl kleinerer Quadrate mit numerierten Farbnäpfchen abgeteilt sind, wurden zu diesem Zwecke empfohlen.

b) Verhältnismässig einfach ist auch die Methode von Darkschewitsch. Ein Glasgfäss von dem ungefähren Umfang der zu bearbeitenden Schnitte wird mit Spiritus gefüllt. Darauf schneidet man sich aus Löschpapier gut in das Glasgefäss hineinpassende Scheiben. Dieselben werden mit einem Bleistift numeriert und mit Spiritus durchtränkt. Jeder Schnitt wird nun in der Weise von dem Mekrotommesser entfernt, dass man das Löschpapier sanft aufdrückt und dann abzieht. Die Papierstreifen werden schliesslich, die Schnittseite nach oben, in dem Glaszylinder in der richtigen Reihenfolge säulenförmig übereinander geschichtet, so dass jeder Schnitt auf dem mit der entsprechenden Nummer versehenen Papierstück liegt. Die Schnitte können so beliebig lange aufgehoben werden. Will man färben, so entfernt man den Spiritus, spült eventuell noch mit dest. Wasser nach und giesst dann die Farbstofflösung auf. Ebenso verfährt man im weiteren Verlauf mit den anderen Reagentien. Die letzteren können auch auf flachen Tellern zur Einwirkung gebracht werden. Die Schnitte lösen sich von selbst nicht wieder von ihrer Unterlage ab.

B. Serienschnitte von Paraffinpräparaten.

Man schneidet mit querer Messerstellung. Das Messer muss mit der Längsachse des Instrumentes einen rechten Winkel bilden; seine Schneide soll zuerst eine Fläche des genau rechteckig zugeschnittenen Paraffinblockes treffen. Dieselbe muss also der Messerschneide parallel stehen. Das Messer soll nur mit der Schneide schneiden, die Fläche des Messers soll nicht über das Präparat hingleiten. Man erreicht dies dadurch, dass man durch Zwischenklemmen von Holz- oder Metallkeilen zwischen dem Messergriff, dem Messerschlitten und der Messerschraube den Rücken des Messers etwas höher stellt als die Schneide. Schneidet man mit derartig gestelltem Messer, so wird die Schnittfläche des Paraffins matt, nicht glänzend.

Der Messerschlitten wird rasch in hobelnder Bewegung geführt. Die Schnitte kleben dann an den Rändern aneinander und bilden lange Bänder. Am besten gelingt das Bänderschneiden bei einer Schnittdicke von 5—10 μ. Bei richtiger Konsistenz des

Paraffins legt sich der erste Schnitt glatt auf die Klinge und wird durch den zweiten Schnitt in der Richtung gegen den Messerrücken zu verschoben. Zeigen die ersten Schnitte Neigung, sich zu rollen, so müssen sie vorsichtig mit einem zarten Pinsel in die richtige Lage gebracht werden.

Die Paraffin-Serienschnitte werden wie die gewöhnlichen Paraffin schnittemit Eiweissglyzerin aufgeklebt (s. S. 71) und genau so, wie diese weiterbehandelt.

Empfehlenswert ist zum Aufkleben auch die Oltsche Methode: Die Paraffinschnitte werden genau wie die Celloidinpräparate auf Objektträgern, welche mit einer ganz dünnen Gelatineschicht (s. S. 75) überzogen sind, glatt angedrückt. Hierauf wird ein mit 4—10 proz. Formol getränkter Papierstreifen aufgelegt und mit einer zweiten Glasplatte beschwert, damit die Schnitte keine Unebenheiten annehmen. Nach mindestens einer Minute wird das Präparat auf einige weitere Minuten in 10 proz. Formollösung gebracht, dann in Alkohol entwässert und in Benzol vom Paraffin befreit. Am sichersten lassen sich Unebenheiten vermeiden, wenn das Präparat, nachdem die Schnitte angedrückt sind, einige Stunden in einem verschlossenen Gefäss, dessen Boden mit Formalin bedeckt ist, Formoldämpfen ausgesetzt wird.

Wertvolle Paraffinschnitte, deren Falten nicht gut durch mechanische Behandlung ausgeglichen werden können, bringt man in einer Lösung aus 10 Teilen Wasser und 1 Teil der vorrätigen Phenolgelatine. Die Flüssigkeit wird hiernach erwärmt, bis sich die darauf schwimmenden Schnitte glatt ausgebreitet haben. Nach dem Erkalten werden sie auf den Objektträger gebracht, auf dem übrigens die ganze Prozedur mit einigen Tropfen der Flüssigkeit vorgenommen werden kann. Nachdem die letztere bis auf eine spärliche Menge entfernt ist, lässt man den Schnitt nahezu oder vollständig antrocknen und behandelt wie oben angegeben weiter.

Literatur.

Altmann, Encycl. d. mikr. Techn. Art.: Altmann'sche Granulamethoden. — Born, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 22. 1883. — Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 5. 1888. — Dantschakoff, Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 25. 1908. — Dimmer, Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 16. 1899. — Gottschau, Sitz. Ber. d. phys. med. Ges. z. Würzburg. 1881. — Gudernatsch, Zeitschr. f. w. M. Bd. 24. 1907. — Halben, Arch. f. Ophth. Bd. 57. 1904. — Helly, Zeitschr. f. w. M. Bd. 23. 1906. — Leber, Ber. d. Ophth. Ges. Heidelb. 1892. — Obregia, Neurol. Zentralbl. Bd. 9. 1890. — Olt, Z. f. w. M. Bd. 23. 1906. — Reinke, Z. f. w. M. Bd. 12. 1895. — Rubaschkin, Anat. Anz. Bd. 30. 1907.

Strasser, Z. f. w. M. Bd. 3. 1886. — Bd. 4. 1887. — Unna, Monatsh. prakt. Derm. Bd. 32. 1901. — Weigert, Z. f. w. M. Bd. II. 1885. — Bd. III. 1886. — Wolfrum, Klin. Monatsbl. f. Augenh. XLIII. 2. 1905. —

VIII. Färbemethoden.

Einige von den gebräuchlichen Fixierungsmitteln sind schon imstande, den Gewebselementen eine Färbung zu erteilen. So färbt die Pikrinsäure das Gewebe gleichmässig gelb, die Osmiumsäure schwärzt das Fettgewebe, ebenso die Aussenglieder der Stäbchen und Zapfen, und die Ölkugeln in dem Zapfeninnenglied der Vögel, Reptilien und Amphibien.

Brösicke empfiehlt die kombinierte Anwendung der Überosmium- und Oxalsäure als Färbemittel. Kleinere Gewebsstücke werden auf etwa eine Stunde in eine 1 proz. Lösung von Überosmiumsäure gelegt, sorgfältig entwässert, dann für 24 Stunden und länger in eine kalt gesättigte Oxalsäurelösung (1: 15) gelegt und in Wasser oder Glyzerin untersucht. Es stellen sich dann eigentümliche Farbeneffekte ein, so färbt sich hell karmoisin der Glaskörper, das Kornealgewebe, dunkel karmoisinrot Linsenfasern, burgunderrot die meisten Kerne und viele Zellen, sowie das Nervenmark. Hellrot färben sich auch die elastischen Häute der Kornea.

Mit Vorteil bedient man sich jedoch gewisser **Farbstoffe**[1]) um das Gewebe zu färben.

In der Theorie der Färbung stehen sich seit altersher die chemische und die physikalische Richtung gegenüber, die erstere legt das Hauptgewicht auf chemische Vorgänge, die letztere auf physikalische (physikalische Dichte, Absorption). In neuerer Zeit gewinnt eine mehr vermittelnde Theorie, die Witt'sche „Lösungstheorie" immer mehr Anhänger. Sie „fasst den Färbeprozess als einen chemischen Vorgang auf und sieht in der gefärbten Substanz eine chemische Verbindung, jedoch nicht nach den molekularen Verhältnissen, sondern nach den schwankenden Verhältnissen genau so, wie sie bei dem Zustandekommen irgend welcher Lösungen obwalten." Es wird also die gefärbte Faser als eine sog. „starre Lösung" des Farbstoffes selbst in der Faser aufgefasst.

Man unterscheidet zwei Sorten von Farbstoffen:

1. solche, die ausschliesslich die Kerne färben: **Kernfärbung;**
2. solche, die den Zellleib und sonstige protoplasmatische Substanzen färben: **Protoplasmafärbung.**

Zu den ersteren gehören das Hämatoxylin (aus dem Campecheholz gewonnen), das Karmin (von der Cochenilleschildlaus gewonnen) und die basischen Anilinfarben. Zu den

[1]) Zu beziehen von Dr. *G. Grübler u. Co.*, Leipzig, Liebigstrasse 1. In Berlin zu erhalten bei *P. Altmann*, Luisenstrasse. 47.

letzteren gehören die Pikrinsäure, sowie die neutralen und sauren Anilinfarben.

Eine Kombination von zwei oder mehr Farben geben die Doppel- und Mehrfachfärbungen.

Für bestimmte Gewebe (Markscheiden, Neuroglia etc.) und pathologische Produkte (Fibrin) sind besondere Färbemethoden in Gebrauch (cf. Kap. IX u. X).

Um ein einfach oder doppelt gefärbtes Präparat, wie es am meisten zu empfehlen ist, herzustellen, verfährt amn auf folgende Weise:

Der Celloidinschnitt wird aus dem Alkohol 70 proz., in dem er aufbewahrt worden war, in ein Schälchen mit dest. Wasser gebracht, in dem er sich unter drehenden Bewegungen ausbreitet. Nachdem er durch Untertauchen mit einer Präpariernadel gut befeuchtet worden, bringt man ihn mittels eines Horn- oder Blechspatels in ein Schälchen mit dem Kernfarbstoff, z. B. Hämatoxylin. Hierin wird er eine bestimmte Zeit lang gefärbt, dann in dest. Wasser gebracht und ausgewaschen, um den überschüssigen Farbstoff zu entfernen. (Das Präparat kommt dann in die zweite Farbstofflösung, z. B. Eosin, wird hier weiter gefärbt, dann wieder ausgewaschen[1])) und nun mit 95 proz. Alkohol entwässert, in Karbol-Xylol aufgehellt und in Kanadabalsam eingeschlossen.

Es ist für gewisse Färbungen unbedingt nötig, dass das bei den Färbungsprozeduren verwandte destillierte Wasser vollkommen chemisch rein und frei von Verunreinigungen alkoholischer und saurer Natur ist. Derartige Verunreinigungen können schon in minimalen Spuren die Färbungsresultate (Azurfarbstoff) vollkommen verderben. Für derartige empfindliche Präparate muss man sich das dest. Wasser selbst frisch herstellen und dasselbe nur in Flaschen aus Jenenser Glas aufbewahren. (Politzer.)

Mit Ausnahme gewisser Anilinfarben (Bismarckbraun, Gentianaviolett, Methylviolett) gibt das Celloidin stets die Farbe ganz oder bis auf eine minimale Spur wieder von sich, so bei den meisten kernfärbenden Substanzen, aber auch bei vielen diffus färbenden, z. B. Eosin, Säurefuchsin. Hauptsächlich bediene man sich der Doppeltinktion mit Hämatoxylin und Eosin (oder Orange), mit Karmin (Hämatoxyl.)-Pikrinsäure, mit Safranin-Lichtgrün, die sehr elegante Präparate geben, und der Färbung mit Säurefuchsin, in der alles, was Faser oder

[1]) Bei der einfachen Kernfärbung ist das (Eingeklammerte) fortzulassen.

Bindegewebe ist, aufs Prägnanteste hervortritt. Von den Farbstoffgemischen, die mehrere Farbstoffe zugleich enthalten, sind besonders empfehlenswert das Pikrokarmin, das Biondi-Heidenhainsche Gemisch und die Mischung nach von Gieson, bezw. mit Eisenhämatoxylin.

Wegen der Löslichkeit des Celloidins in absolutem Alkohol darf man nur mit 95 proz. Spiritus entwässern, und mit Stoffen, die sich mit einer geringen Wasserbeimischung vertragen, wie Karbol-Xylol, Bergamott-, Terpentin-, Origanum-Öl, Buchenkreosot aufhellen. (Paraffinpräparate können dagegen in absol. Alkohol entwässert und in Xylol aufgehellt werden).

Die aufgeklebten Paraffinschnitte werden ähnlich behandelt. Nach Entfernung des Paraffins mittelst Xylol und Entfernung des Xylols durch Alkohol absolutus wird der Objektträger mit den Schnitten durch 90 proz. und 60 proz. Alkohol in Wasser gebracht[1]), dann die Einfach- oder Mehrfachfärbung vorgenommen und ausgewaschen, und schliesslich die Schnitte entwässert (man bringt sie kurze Zeit wieder in 60 proz., dann in 90 proz. und absoluten Alkohol), aufgehellt in Xylol und eingeschlossen in Kanadabalsam.

Rascheres Arbeiten gestattet die **Stückfärbung**, d. h. das Verfahren, grössere Stücke in toto durchzufärben. Dieselbe ist namentlich bei embryologischen Untersuchungen im Gebrauch. Als Farbstoffe eignen sich hierfür das Alaunkarmin, das Boraxkarmin und die R. Heidenhainsche Hämatoxylinfärbung.

A. Kernfärbungen.

1. Hämatoxylinfärbungen.

Das Hämatoxylin, Oxybrasilin, wird aus dem Blauholz (Campecheholz) gewonnen und kommt in Form farbloser, durch Oxydation aussen etwas brauner Krystalle in den Handel. Zur Färbung allein wird es nur selten verwendet, vielmehr muss in dem Präparat selbst eine Basis vorhanden sein oder hineingebracht werden, mit dem das Hämatoxylin eine Lackverbindung eingeht. Als Basen kommen hauptsächlich in Betracht: Alu-

[1]) Die allmähliche Verminderung der Alkoholkonzentration ist nötig, damit die beim Einbringen in die wässerige Farbstofflösung entstehenden Diffusionsströme nicht zu heftig sind. In alkoholische Farbstofflösungen können die Präparate direkt aus dem absol. Alkohol übergeführt werden; das gilt natürlich auch für Celloidinpräparate.

minium (in Form von Alaun), Chrom, Eisen, Kupfer und Molybdän. Das Hämatoxylin ist eines der besten Kernfärbungsmittel: die Kerne werden dunkelblau oder violett gefärbt; daneben nimmt das Protoplasma einen blassblauen Farbenton an.

a) Alaunhämatoxylin (Böhmer) ist von historischem Interesse, da es die älteste Lösung dieser Art ist. Man bezieht es fertig von Grübler, Leipzig, oder man bereitet sich eine Lösung von 1 g krystallisiertem Hämatoxylin in 10 ccm absolutem Alkohol und eine Lösung von 20 g Alaun in 200 ccm warmem dest. Wasser und filtriert nach dem Erkalten. Nach 24 Stunden werden beide Lösungen gemischt und bleiben 8 Tage in einem weithalsigen Gefäss offen an der Luft stehen. Die dunkelblaue Lösung muss vor dem Gebrauch filtriert werden.

Die Färbung gelingt am besten nach Fixation in Alkohol, Sublimat, Formalin und Müller scher Flüssigkeit, schwer nach Fixation in Chromosmiumgemischen.

Anm. Sämtliche Hämatoxylinlösungen erlangen ihre volle Färbungskraft erst mehrere Tage nach der Herstellung, sie müssen erst ausreifen. Dieser Reifeprozess vollzieht sich unter Einwirkung des Lichtes und des Sauerstoffs der Luft, das Hämatoxylin wird dabei in das färbende Hämateïn umgewandelt. Je länger die Lösung steht und je älter sie wird, desto intensiver wird ihre Färbekraft. Daher kommt es, dass namentlich bei älteren Lösungen sehr leicht eine Überfärbung eintritt, d. h., dass neben den Kernen sich auch das Protoplasma stark mitfärbt. Alte Lösungen färben fast momentan, frischere in 3—5 Minuten. Die schönste Färbung erhält man, wenn man die oben angegebene Lösung stark verdünnt, d. h. einige Tropfen davon in ein Schälchen mit destilliertem Wasser bringt, und dann 12—24 Stunden lang färbt. Auf diese Weise tritt nie eine Überfärbung ein; man erhält eine reine, schöne Kernfärbung.

Ist bei der schnellen Färbung eine Überfärbung eingetreten, so kann man als Entfärbungsmittel eine ½—1 proz. Alaunlösung anwenden. Weniger empfehlenswert, aber schneller als die Alaunlösung entfärbend, ist der Salzsäure-Alkohol (1 Teil Acid. hydrochlor. conc., 100 Teile 70 proz. Alkohol) oder mit Essigsäure angesäuertes Wasser. (1 Tropfen auf 30 ccm Wasser). Die Schnitte bleiben hierin je nach dem Grade der Überfärbung einige Minuten lang. Dann werden sie mit reichlichem Wasser, dem man zur schnelleren Entfernung der Säure eine Spur Ammoniak (1 Tropfen auf 100 ccm Wasser) oder einige (3—10) Tropfen einer konzentrierten Lithionkarbonatlösung zugesetzt hat, gut ausgewaschen, und können jetzt noch mit einem diffusen Protoplasmafarbstoff nachgefärbt, oder direkt entwässert, aufgehellt und eingeschlossen werden.

Bei gelungener Färbung sind die Kerne tiefblau, das Protoplasma blassbläulich gefärbt. Ebenso färbt sich Mucin, Kalk, wuchernder Knorpel mehr oder minder blau.

b) Hämatoxylin (Delafield) (fälschlich Grenacher) wird ebenfalls vielfach gebraucht, hält sich aber nicht lange unzersetzt. 400 ccm konzentr. Lösung von Ammoniakalaun (1 Teil löst sich in etwa 11 Teilen Wasser) werden mit 4 g Hämatoxylin, das in 25 ccm absoluten Alkohol gelöst ist, gemischt. Das Gemisch bleibt 3—4 Tage in einem offenen Gefässe unter öfterem Schütteln am Licht stehen und wird hierauf filtriert. Nun fügt man 100 ccm Glyzerin und ebensoviel Methylalkohol hinzu und bewahrt die Lösung in gut verschlossener Flasche auf. Zum Gebrauch wird sie nach Belieben mit dest. Wasser verdünnt.

c) Säure-Hämatoxylin (Ehrlich) zeichnet sich durch grosse Haltbarkeit aus. Überfärbung tritt nicht so leicht ein; auch Farbstoffniederschläge bleiben vollständig aus.

Lösung I.	Hämatoxylin	2,0
	Alkohol absol.	60,0
Lösung II.	Konzentrierte Lösung von Alaun in Glyzerin und	
	Aqu. dest. $\overline{aa}$	60,0
	Eisessig	3,0

Beide Lösungen werden gemischt und zur Reifung 6 Tage in offener Flasche der Luft ausgesetzt. Färbezeit 4—5 Minuten.

d) Hämalaun (P. Mayer) hat grosse Vorzüge: Das Reifen der Farbstofflösung fällt weg, die Farbe kann also sofort benutzt werden. Das Hämalaun färbt rasch, überfärbt (namentlich mit Wasser verdünnt) nicht, und dringt tief ein (ist also auch mit Vorteil für Stückfärbung anzuwenden). Das Hämalaun ist eine Hämateïn-Alaunlösung: Man löst 1,0 g Hämateïn (aus Hämatoxylin durch Oxydation gewonnen) oder Hämateïnammoniak durch Erwärmen in 50 ccm 90 proz. Alkohol und vermischt es mit einer Lösung von 50 g Alaun in 1 Liter Wasser. Nach dem Erkalten filtriert man, und kann auch noch 2 pCt. Eisessig hinzusetzen. Nach der Färbung gründlich auswaschen.

e) Chromhämatoxylin (R. Heidenhain). Dasselbe eröffnet die Aera der modernen Hämatoxylinfärbungen und ist auch heute noch für die Stückfärbung unentbehrlich.

Nach möglichst gutem Auswaschen sauer fixierter Stücke, kommen dieselben auf 24—48 Stunden in eine 0,5proz. oder besser

1 proz. wässerige Hämatoxylinlösung. Darauf direkte Übertragung in eine $^1/_3$proz. wässerige Lösung von Kalium bichromicum. Diese wird durch die auftretenden Farbwolken rasch gefärbt und muss daher mehrmals gewechselt werden. Darauf Übertragen in Alkohol, um durch Lösung des chromsauren Salzes eine Säureabspaltung zu verhindern, und schliesslich gutes Auswaschen in Leitungswasser oder dest. Wasser mit einem Zusatz von wenig kohlensaurem Alkali. Vermeidung ätherischer Öle bei der Einbettung. Die Schnitte müssen möglichst dünn (5 μ) sein und wegen der leichten Oxydierbarkeit der Farbe mit wenig neutralem Kanadabalsam unter einem grossen Deckglas eingeschlossen werden. Die Präparate erscheinen schwarz bis eisengrau und zeigen viele Feinheiten der Kern- und Plasmastruktur.

Nach O. Schultze fixiert man die Stücke zuerst in Flemmingscher Lösung oder Kaliumbichromat-Osmiumsäure (3 pCt. Kaliumbichromat 45 ccm, 2 pCt. Osmiumsäure 15 ccm), zieht die Stücke 1 bis mehrere Tage im Dunkeln mit 50 pCt. Alkohol aus, und färbt dann in einer Lösung von 0.5 pCt. Hämatoxylin in 70 pCt. Alkohol, 24 Stunden und länger. Dann Alkohol 70 pCt., Alk. abs., Einbettung.

f) Eisenhämatoxylin (Benda).

Die Schnitte kommen für 24 Stunden in Liq. ferri sulfurici der Pharmakopoe, der mit dem gleichen Volumen destillierten Wassers verdünnt ist, werden dann zunächst mit destilliertem und darauf mit Leitungswasser gut ausgewaschen und in eine 1 proz. wässerige Hämatoxylinlösung übertragen. Die ganz schwarz gefärbten Schnitte werden in Wasser gewaschen und in dünner Essigsäure (5—30 pCt.) oder stark verdünntem Liq. ferri sulf. (1: 20) differenziert. — Ausser Kernen und Kernteilungen färben sich auch die roten Blutkörperchen, sowie viele elastische Fasern tiefblauschwarz.

g) Eisenhämatoxylin (M. Heidenhain).

1. Härtung in Sublimat, Aufkleben der Schnitte (3—6 μ) mit dest. Wasser, Behandlung mit Jodspiritus. Auch Härtung in Formol gibt gute Resultate. Eventuell Vorfärbung mit Bordeaux-R. oder Anilinblau.

2. Beizung in 2½ proz. Lösung des violetten Eisenalauns (schwefels. Eisenoxydammonium) 3—12 Stunden. Man stellt den Objektträger senkrecht in die Lösung, damit etwaige Niederschläge nicht auf den Schnitt fallen.

3. Kurz abspülen in Wasser.

4. Färben 24—36 Stunden in nicht zu frischer, 4—6 Wochen alter ½ proz. wässeriger Hämatoxylinlösung, ebenfalls mit senkrechter Stellung des Objektträgers. Es empfiehlt sich, immer dieselbe Farblösung zu gebrauchen. Frische Hämatoxylinlösung erhält Färbekraft, wenn man sie mit etwas Beize versetzt, in der Menge, dass kein nennenswerter Niederschlag entsteht.

5. Abspülen in Leitungswasser.

6. Zurückbringen in die Beizflüssigkeit. Differenzieren unter Kontrolle des Mikroskops (Wasserimmersion D von Zeiss), bis das Zellprotoplasma entfärbt ist, unter öfterem Abschwenken in einem Gefäss, welches 1—2 Liter Leitungswasser enthält.

7. Alkohol, Xylol, Kanadabalsam. (Cave: ätherische Öle, dicke Balsamschicht, kleines Deckglas, vielmehr: Xylol, wenig neutraler Balsam, grosses Deckglas.) Nachfärbungen: saure Anilinfarben, besonderes Rubin. — Vorzügliche Methode zur Darstellung der Kernstrukturen.

h) Eisenhämatoxylin (Bütschli).

Die Schnitte kommen nacheinander in eine schwache Lösung von Eisenacetat, Wasser und ½ proz. Lösung von Hämatoxylin. Sie werden ganz tief braunschwarz oder blauschwarz, müssen daher, um nicht undurchsichtig zu werden, äusserst dünn sein. (Zum Studium des Arachnoiden-Auges empfohlen vgl. S. 42.)

i) Eisenhämatoxylin (Hansen).

Eine Lösung von 10 g Eisenalaun in 150 ccm Wasser wird in eine Lösung von 1,6 g Hämatoxylin in 75 ccm Wasser gegossen, das Gemisch bis zum Kochen erhitzt und unter Luftabschluss erkalten gelassen. Vor dem Gebrauch zu filtrieren. Reine Kernfärbung durch Zusatz von verdünnter Schwefelsäure erzielbar.

k) Eisenhämatoxylin (Weigert).

Zur Herstellung der Färbungsflüssigkeit braucht man 2 Stammlösungen:

1. Hämatoxylin 1 g
   96 proz. Alkohol 100 ccm
2. Liq. ferri sesquichlor. Ph. G. IV. 4 ccm
   Offizinelle Salzsäure (25 proz. HCl) 1 „
   Wasser 95 „

Vor der Färbung vermischt man gleiche Raumteile der beiden Stammlösungen mit einander. In der so erhaltenen Färbungsflüssigkeit bleiben die Schnitte einige Minuten oder beliebig länger. Sie kommen dann in Wasser und zur Nachfärbung in die van Gieson-Mischung (s. d.). Diese Färbungs-Methode ist als Universalfärbung sehr zu empfehlen.

Kupferhämatoxylin vergl. Weigerts Methode für die Nervenfasern.

Molybdänhämatoxylin vergl. Mallorys Gliafärbung und Heldsche Protoplasmafärbung.

2. Karminfärbungen.

Karmin ist eine Verbindung der Karminsäure mit Aluminium, Kalcium und Proteinstoffen. Es wird aus der Cochenille gewonnen und dient zur Färbung der Kerne und des Plasmas. Es ist neben dem Hämatoxylin als ausgezeichnetes Kernfärbungsmittel zu empfehlen. (Nur das Mucikarmin dient zur Färbung des Schleimes.)

a) Alaunkarmin (Grenacher).

1 g Karmin wird mit 100 ccm einer 5 proz. Alaunlösung 20 Minuten gekocht und nach dem Erkalten filtriert.

Die Färbung gelingt am besten nach vorheriger Fixierung in Alkohol, Sublimat, Formalin und Müllerscher Flüssigkeit.

Färbungsdauer 10 Minuten bis mehrere Stunden; dann auswaschen mit dest. Wasser. Überfärbung tritt nicht ein. Reine Kernfärbung (violett).

b) Boraxkarmin (Grenacher).

Karmin	2—3 g
Borax	4 g
Aq. dest.	93 ccm

wird zur Lösung gebracht und nach 48 Stunden mit 100 ccm 70 proz. Alkohol gemischt. Nach 36 Stunden filtrieren. Man lässt die Objekte in der Lösung, bis sie gut damit durchtränkt sind, eventuell tagelang, bringt sie, ohne sie auszuwaschen, in Salzsäure-Alkohol (70 proz. Alkohol mit Zustaz von 4—6 Tropfen Salzsäure auf 100 ccm), und lässt sie darin, bis die Farbe sich aus dem Plasma auf den Kern zurückgezogen hat, was ebenfalls tagelang dauern kann; sie sehen dann hellrot, durchsichtig aus und kommen nun in neutralen Alkohol.

Das Boraxkarmin war früher das gebräuchlichste Mittel zur Stückfärbung. Es ist leicht zu handhaben, und gibt eine schöne Färbung, dringt allerdings nicht gut durch, und bildet zuweilen Niederschläge. Schnitte färbt man ¼ Stunde und länger, dann Differenzieren in Salzsäure-Spiritus.

c) Lithionkarmin. (Orth.)

2,5 g Karmin werden in 100 ccm kalt gesättigter wässeriger Lösung von Lithion carbonicum gelöst.

Vorherige Fixation in Akohol, Formalin, Sublimat ergeben die schönste Färbung. Da die Lösung stark maceriert, lässt man die mit Wasser aufgeklebten Schnitte nur kurze Zeit (etwa $^1/_2$ Minute) in der Farbe und bringt sie dann direkt auf 12—24 Stunden zur Differenzierung in Salzsäurealkohol (Fischer). Schöne tiefrote Kernfärbung.

d) Parakarmin (P. Mayer).

Karminsäure	1 g
Chloraluminium	0,5 „
Chlorcalcium (oder Chlornatrium)	4 „
Alkohol 70 proz.	100 ccm

Nach dem Absetzenlassen wird filtriert. Hellrot, besonders gut zum Durchfärben. Das Parakarmin dringt leicht ein, überfärbt nicht, ist dem Gewebe weniger schädlich als das Boraxkarmin und bildet nicht so leicht Niederschläge. Die Färbung ist allerdings nicht so lebhaft rot.

3. Kernfärbende Anilinfarben.

a) Bismarckbraun, Vesuvin (Weigert).

Reines Kernfärbungsmittel. Die Kerne werden braun gefärbt. Nicht anwendbar ist der Farbstoff nur dann, wenn braune Pigmente bei der Untersuchung eine Rolle spielen.

Herstellung der Lösung:

Bismarckbraun	2,0
Alkohol 90 proz.	60,0
Aq. dest.	40,0

Die Lösung wird gekocht und nach dem Erkalten filtriert. Um Bakterienentwicklung hintanzuhalten, setzt man einige Tropfen Karbolsäure zu.

Die Schnitte kommen aus Alkohol direkt in die Farbstofflösung auf 5—10 Minuten oder länger, da Bismarckbraun nicht überfärbt. Dann Auswaschen in Alkohol oder Wasser, Xylol, Kanadabalsam.

b) Safranin (Pfitzner)

ist ein wertvolles Kernfärbungsmittel, vor allem für Präparate, welche mit Flemmingscher Lösung behandelt sind.

Safranin	1,0
Alkohol absol.	100,0
Aq. dest.	200,0

Man löse zunächst Safranin in Alkohol und setze dann das Wasser hinzu.

Schnittfärbung 24 Stunden, dann ausziehen mit Alkohol absol. Zieht man mit Flemmingscher Lösung behandelten Objekten entnommene Schnitte, welche mit Safranin gefärbt sind, mit angesäuertem Alkohol (8 Tropfen reiner Salzsäure oder 10

Tropfen konzentr. Pikrinsäurelösung auf 100 ccm Alkohol) aus, so erhält man nur bestimmte Teile des Kerns gefärbt: Chromatin — Alkohol absol., Xylol, Kanadabalsam. —

Kernteilungsfiguren sind intensiv rot gefärbt, die ruhenden Kerne blassrosa. Schleim nimmt einen gelbroten, Fibrin einen tiefroten Farbenton an. — Kontrastfärbung mit Lichtgrün.

c) Safranin (B a b e s)
färbt schneller als das vorige (5 Minuten bis einige Stunden).

Safranin	2,0 g
Aqu. dest.	100,0 ccm
Anilinöl	3,0 ccm

Nach der Färbung Behandlung wie beim vorigen.

d) Fuchsin (R u b i n). Anfertigung und Färbung wie Safranin.

e) Gentianaviolett
in 1 proz. wässeriger oder 1—2 proz. alkohol. Lösung, Färbung 3—5 Minuten. Auswaschen in Alkohol, bis der Schnitt eine hellblaue Farbe hat. Absol. Alkohol, Xylol, Balsam. Oft wird die Kernfärbung noch deutlicher, wenn man den Schnitt aus der Farbe für ½ Minute zunächst in eine ½ proz. wässerige Essigsäurelösung bringt und erst dann in Alkohol auswäscht.

f) Methylenblau
einige Tropfen der alkoholischen Lösung auf ein Schälchen Wasser. Färbung 5 Minuten. Ausspülen in Wasser mit einer Spur Essigsäure, Alkohol, Xylol, Balsam.

g) Methylgrün
in 1 proz. wässeriger Lösung. Hauptanwendung bei der B i o n d i - H e i d e n h a i n schen Methode.

h) Kresylviolett „R. extra“
(Chem. Fabrik Mülheim a. M.) in konzentr. wässeriger Lösung. Färben 5—10 Minuten. Differenzieren in 70 proz. Alkohol, bis keine blauen Wolken mehr abgehen, 93 proz. Alkohol, Karbolxylol, Xylol, Balsam.

B. Protoplasmafärbungen.

Im Gegensatz zu den basischen, kernfärbenden Anilinfarben stehen die sauren Anilinfarben, die das Protoplasma diffus färben. Sie kommen isoliert selten in Anwendung, sondern fast nur in Verbindung mit Kernfärbungen. Sie sind aber längst nicht so wertvoll wie die Kernfärbungen, da sie gewöhnlich nicht viel mehr zeigen,

als gar keine Färbung auch. Besonders gilt dies für das Eosin, der mit Hämatoxylinkombination gebräuchlichsten Plasmafarbe. Die Anwendung der Plasmafärbung geschieht gewöhnlich so, dass man zuerst eine Kernfärbung vornimmt und dann eine Plasmafärbung folgen lässt (vergl. S. 81).

Die gebräuchlichsten Protoplasmafärbungen sind:

a) Eosin.

1. Färbung der Schnitte ¼—½ Minute in ca. 1 proz. wässeriger Eosinlösung (einige Tropfen konzentr. alkohol. Eosinlösung auf ein Schälchen Wasser). Abspülen ist dest. Wasser.

2. Differenzierung einige Minuten in 70 proz. Alkohol, dem 2 Tropfen einer alkohol. Eosinlösung zugesetzt sind. (Dieser Zusatz von Eosin zum Alkohol muss erfolgen, weil sonst der Farbstoff sofort wieder ausgezogen wird.)

3. Entwässern in Alkohol absol., welchem ebenfalls 1—2 Tropfen alkohol. Eosinlösung zugesetzt sind.

Zellsubstanzen, Muskeln, rote Blutkörperchen, sowie das Sekret der Eiweissdrüsen werden tiefrot gefärbt

b) Orange G.

färbt in verdünnter wässeriger Lösung (1 proz.) die Zellsubstanzen hellorange, Muskeln hellgelb. Ist der Eosinfärbung vorzuziehen.

c) Aurantia, Kaisergelb.

in konzentr. wässeriger, mit Essigsäure leicht angesäuerter Lösung zur Doppelfärbung nach Hämatoxylin empfohlen.

d) Säurefuchsin (Fuchsin S., Rubin S.)

wird angewendet in konzentrierter wässeriger Lösung oder in Anilinwasser gelöst. (Es ist nicht zu verwechseln mit dem Fuchsin, Rubin, Magenta, Diamantfuchsin).

Anm. **Anilinwasser** stellt man sich nach Ehrlich folgendermassen dar: Man giesst in ein Reagenzglas mit destilliertem Wasser Anilinöl, schüttelt kräftig durch, so dass sich das Öl verteilt und filtriert durch ein mit Wasser befeuchtetes Filter. Das filtrierte Wasser ist klar, riecht aber stark nach Anilinöl. In 100 ccm Anilinwasser löst man 20 g Säurefuchsin und färbt damit kalt oder in der Wärme.

e) Anilinblau (wasserlöslich), Wasserblau.

1—2 Tropfen einer konzentr. wässerigen Lösung auf ein Schälchen Wasser. Färbung 1—2 Minuten. Bei zu schwacher Blaufärbung bringt man den Schnitt auf einige Sekunden in Salzsäure-Alkohol, bei Überfärbung in Wasser, das mit wenig Ammoniak versetzt ist.

f) Nigrosin.

Anwendung wie Anilinblau.

g) Lichtgrün
eignet sich vorzüglich zur Kombination mit Safraninfärbungen. Präparate, die 24 Stunden in Safranin gefärbt sind. kommen auf ¼—½ Minute in eine 1 proz. Lösung von Lichtgrün in 96 proz. Alkohol (B e n d a).

h) Pikrinsäure.
Von einer gesättigten, wässerigen oder alkoholischen Lösung gibt man einige Tropfen zu dest. Wasser oder Alkohol. In dieser verdünnten Lösung Färbung 1—5 Minuten. Dann Auswaschen in Wasser bezw. Alkohol. Letzterer zieht die Farbe schnell aus. Eine Abschwächung einer zu stark ausgefallenen Färbung kann man auch mit verdünnter Lithinkarbonatlösung (1 Teil konzentr. Lösung von Lith. carb. auf 10 Teile Aq. dest.) erzielen. Die Pikrinsäure färbt alles gleichmässig gelb.

Bei der Kombination mit Hämatoxylin achte man darauf, dass die Pikrinsäure auf die Hämatoxylinfärbung abschwächend wirkt.

C. Mehrfachfärbungen.

Kombinationen eines kernfärbenden und eines diffus färbenden Farbstoffes haben wir schon S. 81 erwähnt.

An dieser Stelle sollen nur noch einige sehr empfehlenswerte Färbemethoden angeführt werden, welche Kernfärbung und diffuse Färbung durch ein einziges F a r b g e m i s c h ermöglichen.

a) Pikrokarmin.
Karmin 1,0, Liq. Ammon. caust. 5,0, Aq. dest. 50,0. Nach erfolgter Lösung werden 50,0 gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung hinzugesetzt. Man lässt die Flüssigkeit in einem weit offenen Gefäss stehen, bis alles Ammoniak verdunstet ist. Dann filtrieren.

1. Färben 1 Stunde lang.
2. Auswaschen ½ Stunde in 1 proz. Salzsäureglyzerin mit Zusatz von einer Spur Pikrinsäure bis zur Gelbfärbung.
3. Auswaschen 5 Minuten in Wasser, dem ebenfalls eine Spur Pikrinsäure zugesetzt ist.
4. Entwässern in durch Pikrinsäure gelb gefärbten Alkohol.
5. Öl-Balsam.

Die Kerne erscheinen braunrot, das Protoplasma gelb. Auch hyalin und colloid degeneriertes Gewebe wird intensiv gelb gefärbt, ebenso das Protoplasma der quergestreiften Muskeln und Hornsubstanz. Die Färbung gelingt aber nicht immer gut. Dasselbe leistet, aber noch schöner und viel sicherer

b) die Färbung nach van Gieson,
die zwei Plasmafarben enthält.

Härtung in Alkohol, Sublimat, Formol, Müllerscher Lösung.

1. Die Schnitte werden mit Hämatoxylin (Alaunhämatoxylin, Delafields Hämatoxylin) vorgefärbt und überfärbt (10—15 Minuten).

2. Gründliches Auswaschen in Wasser.

3. Färbung auf 3—5 Minuten in

konzentr. wässeriger Pikrinsäurelösung 5 Teile
„ „ Säurefuchsinlösung 1 Teil.

(Hat das Fuchsin zu stark gefärbt, so kann man mit reiner Pikrinsäure wieder ausziehen.)

4. Auswaschen in Wasser ½ Minute.

5. Alkohol-Öl-Balsam.

Sehr empfehlenswert zur Färbung des N. opticus. Die Kerne erscheinen blau-violett, die Achsenzylinder tiefrot, Markscheiden gelb. Die hyalinen Substanzen färben sich orangerot bis gelbrot, das konjunktivale Hyalin tiefrot, ebenso Amyloid, Schleim; glatte Muskelfasern werden gelb, Bindegewebsfasern rot gefärbt.

Am meisten zu empfehlen ist die Weigertsche Modifikation der van Gieson-Färbung:

1. Färbung in Weigerts Eisenhämatoxylin (s. S. 86);

2. Abspülen in Wasser;

3. kurzes Färben in einer Mischung von 100 ccm filtrierter gesättigter Pikrinsäurelösung und 10 ccm einer 1 proz. wässerigen Säurefuchsinlösung;

4. kurzes Abspülen in Wasser;

5. 96 proz. Spiritus, Alkohol absol. (nicht zu lange!), Karbolxylol, Xylol, Balsam.

Savini empfiehlt zur besseren Differenzierung nicht zu überfärben, sondern die Schnitte nach kurzer (ca. 2—4 Minuten) Färbung in Hämatoxilin mit 30 proz. Eissgsäure zu differenzieren, und sie dann in die Bendasche Pikrinsäurefuchsinmischung zu bringen. (Es wird eine Stammlösung bereitet, indem man 95 Vol. gesättigter pikrinsaurer Ammoniaklösung mit 5 Vol. einer 1 proz. Säurefuchsinlösung vermischt; diese bläulichrote Stammlösung (fertig zu beziehen von E. Leitz, Berlin, Luisenstrasse 45) ist unbegrenzt lange haltbar). Zum Gebrauch werden zu etwa 10 ccm derselben in eine Uhrschale 1—2 Tropfen von einer gesättigten Pikrinsäure mit dem Glasstab zugesetzt und gut gemischt. Färbung der differenzierten Schnitte in dieser Lösung 10—15 Minuten. Direktes Übertragen in 80 proz. Alkohol etc.

Die Hauptvorzüge dieser Färbung bestehen darin, dass sie eine vorzügliche abstufbare Färbung gestattet, ohne dabei eine Überfärbung zu bewirken, auch wenn die Schnitte mehrere Stunden darin verweilen, und

weiter auch keine Entfärbung bewirkt, so dass die Hämatoxilinwirkung dadurch gar nicht zurückgedrängt wird.

c) Die Biondi-Heidenhainsche Methode (Biondi-Ehrlich)

konzentr. wässerige Lösung von Methylgrün 8:100) 50,0
„ „ „ „ Orange G (8:100) 100,0
„ „ „ „ Säurefuchsin (20:100) 20,0

Zur Färbung benutzt man ein Gemisch von 1 Teil der Farblösung[1]) mit 50—100 Teilen Aq. dest. (Die Verdünnung muss, wenn sie brauchbar sein soll, auf Fliesspapier einen Fleck hinterlassen, der in der Mitte bläulich-grün, an den Rändern orange gefärbt ist; findet sich an der Peripherie noch ein roter Ring, so ist zu viel Fuchsin darin enthalten.)

Das Wasser soll ganz schwach mit Eisessig angesäuert sein. (2 Tropfen auf 100 ccm Wasser).

Dauer der Färbung 10 Minuten bis 24 Stunden, dann auswaschen in 90 proz. Alkohol 1—2 Minuten, schnelles Entwässern in Alkohol absol., Xylol, Kanadablasam.

Zum Gelingen der Färbung ist Sublimatfixierung notwendig, Formalinhärtung ist weniger gut. Haben die zu färbenden Objekte längere Zeit in Alkohol gelegen, so empfiehlt es sich, die Schnitte zunächst in ganz verdünnte Essigsäure (1:100) auf 1—2 Stunden einzulegen und dann in Wasser abzuspülen.

Die Kerne werden grün gefärbt, das fibrilläre Bindegewebe und das Zellprotoplasma fuchsinrot, die roten Blutkörperchen orangerot. Schleim wird grün, Fibrin rot gefärbt.

Über die eigentümliche Färbung der Netzhaut s. Kap. XIII.

Literatur.

Benda, Anat. Anz. Bd. III. — Verh. Phys. Ges. Berlin. 1885—96. — Arch. Physiol. 1891. — Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 8. 1892. — Böhmer, Ärztl. Intelligenzbl. f. Bayern. Bd. XII. 1865. — Brösicke, Centralbl. f. d. med. Wissensch. No. 46. 1878. — Delafield, Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. II. 1885. — Fischer, Virchows Arch. Bd. 170. 1902. — Grenacher, Arch. Mikr. Anat. Bd. 16. 1879. — M. Heidenhain, Arch. mikr. Anat. Bd. 27. 1886. — Festschr. Kölliker 1892. — Arch. f. mikr. Anat. Bd. 43. 1894. — Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 13. 1896. — Encycl. d. mikr. Techn. Art.: Hämatoxylin-Chromsalze. 1910. — R. Heidenhain, Arch. f. d. ges. Phyisol. Pflüger Bd. 43. Suppl. 1888. — P. Mayer, Mitt. Zool. Stat. Neapel. Bd. X. 1891. — Orth, Berl. klin. Wochenschr. 1884. S. 421. — Pfitzner, Morph. Jahrb. Bd. 6. 1880. — Politzer, Zeitschr. f. Heilk. Bd. 28. H. 10. 1907. — Rost, Monographie des Häma-

[1]) Das Gemisch ist in Lösung oder Substanz von Grübler zu beziehen.

toxylins. 1904. — Savini u. Savini-Castano, Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 26. 1909. — O. Schultze, Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 21. 1904. — Weigert, Arch. mikr. Anat. Bd. 15. 1878. — Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 21. 1904. — Witt, Färbezeitung 1890/91. H. 1. — Encycl. d. mikr. Techn. Art.: Färbung. 1910.

IX. Entwässern der Schnitte.

Nachdem die Schnitte gefärbt sind, werden sie entwässert.

Paraffinschnitte kommen auf wenige Minuten in 60 proz., dann in 90 proz. und schliesslich in absoluten Alkohol.

Celloidinschnitte werden in 95 proz. Alkohol entwässert, da absoluter Alkohol das Celloidin auflöst. Man kann hierzu auch ein Gemisch von Alkohol absol. und Chloroform (2:1) benutzen. Damit sich die Schnitte nicht kräuseln, bringt man sie zuerst mit dem Spatel in dünnen Alkohol, breitet sie dann auf dem Objektträger aus, trocknet mit Fliesspapier ab und entwässert sie mit 95 proz. Alkohol, den man mit einer Pipette auf das Präparat aufträufelt.

Anm. Manchmal ist es notwendig, das Celloidin zu entfernen, besonders bei Färbung mit Anilinfarben, weil das Celloidin die Anilinfarben ebenso fest hält, wie das Gewebe. Man bringt zu dem Zweck die Schnitte in absoluten Alkohol auf ca. 5 Minuten, sodann auf 10—15 Minuten in Äther-Alkohol $\overline{aa}$ und hierauf wieder in Alkohol. Man kann das Celloidin auch mit Nelkenöl auflösen, dieses muss dann wieder durch Xylol entfernt werden.

X. Aufhellen der Schnitte.

Die **Paraffinschnitte,** die durch absoluten Alkohol völlig wasserfrei gemacht worden sind, werden in Xylol übertragen, wo sie nach wenigen Minuten hell und durchsichtig werden.

Um **Celloidinschnitte,** die nur mit 95 proz. Alkohol entwässert worden, aufzuhellen, kann man ebenfalls das Xylol anwenden, nur muss man sich dann der von Welch erfundenen Abtupfungsmethode mit Filtrierbäuschchen bedienen. Wenn man die Prozedur des Abtupfens und des Abspülens mit Xylol einige Male vornimmt, so wird jedes Präparat durchsichtig. Ohne dieses Abtupfungsverfahren bleiben die Schnitte trübe und undurchsichtig, da das Xylol gegen die geringsten Wasserreste äusserst empfindlich ist. Weniger empfindlich und deshalb sehr zu empfehlen ist das **Karbolxylol:**

Xylol purissim.	45.0
Acid. karbol. cryst.	15.0

dem man noch ca. 40.0 gebranntes Kupfersulfat zusetzen kann, um es stets wasserfrei zu erhalten. Nur für Präparate, die mit Anilin-

farben gefärbt sind (Bacterien) eignet sich das Karbolxylol nicht, da es die Anilinfarben löst. Nach der Aufhellung mit Karbolxylol entfernt man dieses durch reines Xylol und schliesst dann das Präparat ein.

An Stelle des Xylols und des Karbolxylols kann man auch ätherische Öle zum Aufhellen der Schnitte benutzen, namentlich sind im Gebrauch: **Origanumöl, Bergamottöl, Cajeputöl, Cedernöl und Lavendelöl.** (Bergamottöl entfärbt Eosinpräparate.) **Nelkenöl** ist für Celloidinschnitte nicht zu gebrauchen, da es das Celloidin auflöst; ausserdem zieht es ebenso wie das Karbolxylol die meisten Anilinfarben aus.

Wenn das zu untersuchende Präparat nicht mit Alkohol in Berührung kommen darf, wendet man zur Aufhellung **Anilinöl** und **Anilinölxylolgemische** (2 : 1 oder $\overline{aa}$ vgl. die Weigertsche Fibrin- und Neurogliafärbung) an: Man bringt den Schnitt auf den Objektträger, trocknet ihn durch Aufdrücken mit Fliesspapier sorgfältig ab und übergiesst ihn mit Anilinöl bezw. Anilinölxylol. Nachher gründliches Auswaschen mit Xylol.

Die Schnitte bleiben solange in den Aufhellungsmitteln, bis sie völlig durchsichtig sind. Wenn die Celloidinschnitte sich in den Ölen nur schwer aufhellen, so kann man dem Öl einige Tropfen absoluten Alkohol zusetzen.

XI. Einschliessen.

a) Nachdem das Präparat aufgehellt ist, wird das überschüssige Aufhellungsmittel durch Fliesspapier entfernt. Dann gibt man einen Tropfen nicht zu dünnflüssigen, in Xylol gelösten **Kanadabalsam** auf den Schnitt und legt vorsichtig das Deckglas auf. Da der Kanadabalsam eine Säure ist wie alle Harze, da er Luft schluckt und deshalb oxydierend wirkt, und da er schliesslich manche Farben (z. B. Safranin, reduziertes Osmium in den Golgi-Präparaten) recht schnell auflöst, so benutze man nur den sog. „neutralen" Balsam (von Grübler), und nehme immer ein recht grosses Deckglas (vgl. S. 70), damit der Rand desselben in weiter Entfernung von der Peripherie des Schnittes befindlich ist, um die Oxydation des Präparates tunlichst zu beschränken. Ausserdem bringe man so wenig wie möglich Kanadabalsam zwischen Deckglas und Objektträger und belaste deshalb auch das Deckglas mit einem kleinen Bleiklotz. Dadurch wird der überschüssige Balsam seitlich herausgepresst, und das Deckglas sinkt auf die Oberfläche des Schnittes herunter, besonders dann, wenn man

den Objektträger auf den Thermostaten legt. Dieser letztere Punkt ist auch optisch wichtig, denn eine dicke Kanadabalsamschicht wirkt wie ein zu dickes Deckglas, welches die feineren Details des Schnittes unerkennbar macht. (Heidenhain.) Zum Niederpressen des Deckglases kann man auch besondere Deckglas-Klemmpinzetten[1]) benutzen; sie ermöglichen ein sauberes Arbeiten als die Belastung mit den Bleiklötzen.

Statt Kanadabalsam kann man auch Dammarharz in derselben Weise anwenden. Dasselbe hellt nicht so stark wie Kanadabalsam auf und erstarrt schneller.

Es sind hier noch zwei Mittel zu erwähnen, die zu gleicher Zeit aufhellen und als Einschlussmasse benutzt werden:

b) **Glyzerin** wird namentlich angewandt für Schnitte, welche nach der Färbung nicht mehr mit Alkohol in Berührung kommen sollen. (Fettpräparate mit Sudan oder Scharlach.) Es bietet auch den Vorteil, dass es weniger stark Licht bricht und daher ungefärbte Gewebe (zerzupfte retinale Elemente) leichter erkennen lässt. Die Schnitte können aus Wasser, Kochsalzlösung und aus Alkohol direkt in Glyzerin übertragen werden.

Für manche Zwecke brauchen wir eine verdünnte Glyzerinlösung (5.0 Glyzerin, 25.0 dest. Wasser). Zur Verhütung von Fäulnis kann man 5—10 Tropfen einer 1 proz. Karbolsäurelösung oder einen Chloralhydratkrystall zusetzen.

Um die Verschiebung des Deckglases bei solchen Präparaten zu verhüten, müssen dieselben umrandet werden. Man bedient sich hierzu des Königschen Lackes.

Anm. Zur Anfertigung desselben werden 2 Teile Wachs geschmolzen und hierzu stückweise 7—9 Teile Kolophonium unter Umrühren zugesetzt. (Vorsicht!) Man filtriert heiss durch Gaze. Der Lack ist im Handel zu erhalten. (Klönne & Müller, Berlin).

Da der Lack nur an trockener Glasfläche haftet, saugt man vorsichtig mit Filtrierpapier zuerst das über den Deckglasrand heraustretende Glyzerin ab und wischt dann sorgfältig den Objektträger rings um das Deckglas mit einem mit 90 proz. Alkohol befeuchteten Tuche ab. Die Umrandung geschieht, indem man einen dicken (für diesen Zweck käuflichen) triangelförmig gebogenen Messingdraht über der Flamme erhitzt, mit demselben etwas von dem harten Kitt abschmilzt und zunächst vier Tropfen an die Ecken des Deckglases bringt. Dann ziehe man mit dem heissen Stabe einen vollständigen Rahmen, der sowohl das Deck-

[1]) Instrumentenmacher Dubois, Tübingen, Neckarhalde.

glas als auch den Objektträger in einer Breite von 1—3 mm deckt. Zum Schlusse glätte man die Oberfläche des Rahmens. Vor Anwendung einer Ölimmersion bestreiche man den Rand mit einer alkoholischen Schellacklösung, da der Lack in Öl löslich ist.

Will man dickere Objekte in Glyzerin einschliessen, so klebe man einen entsprechend dicken viereckigen Papprahmen mit dem Krönig'schen Lack auf dem Objektträger fest, lege in die Mitte desselben das Präparat, fülle den Rahmen mit Glyzerin aus und schiebe vorsichtig ein Deckglas auf den Rahmen, so dass keine Luftblasen entstehen. Der innere Rand des Papprahmens muss durch Überziehen mit dem Lack gegen das Eindringen von Glyzerin in die Pappe geschützt sein. Das Deckglas wird mit dem Lack aufgekittet. Noch besser als Papprahmen sind kleine Kästchen oder Ringe aus Glas oder Stabilit.

Weniger empfehlenswert als der Krönigsche Lack ist die vielfach angewandte Umrandung mit Wachs. Es geschieht dieses, indem man den Rand des Deckglases zunächst mit dem Docht eines eben ausgelöschten Wachslichtes umzieht. Etwa unter dem Deckglas austretendes Glyzerin muss auch hier sorgfältig entfernt werden. Der Wachsrand muss ganz schmal sein und wird, der besseren Haltbarkeit wegen, mit Asphalt-[1]) oder Maskenlack[2]) so überzogen, dass der Lack den Wachsrand auf beiden Seiten überragt, also sowohl dem Deckglas wie dem Objektträger direkt aufliegt.

c. Venetianisches Terpentin ist ein vorzügliches Aufhellungs- und Aufbewahrungsmittel für grössere Bulbusabschnitte, namentlich für injizierte Bulbi zu empfehlen. Die fixierten und gehärteten Augen (pigmentfreie) werden halbiert und kommen aus dem absoluten Alkohol in eine Mischung von

venet. Terpentin 3,0
Alkohol absol. 1,0,

in der sie völlig durchsichtig werden.

Sie können dann entweder in Terpentin oder in Kanadabalsam eingeschlossen werden. An solchen injizierten und durchsichtig gemachten Augen kann man die Gefässverteilung aufs deutlichste studieren.

d) Solutio kalii acetici (konzentr.) empfiehlt sich namentlich für Anilinpräparate (z. B. Amyloidreaktion), da diese sich in Glyzerin nicht halten und in Kanadabalsam allmählich ausgezogen werden. Auch Osmiumpräparate werden hierin eingeschlossen, da sie das Glyzerin bräunen.

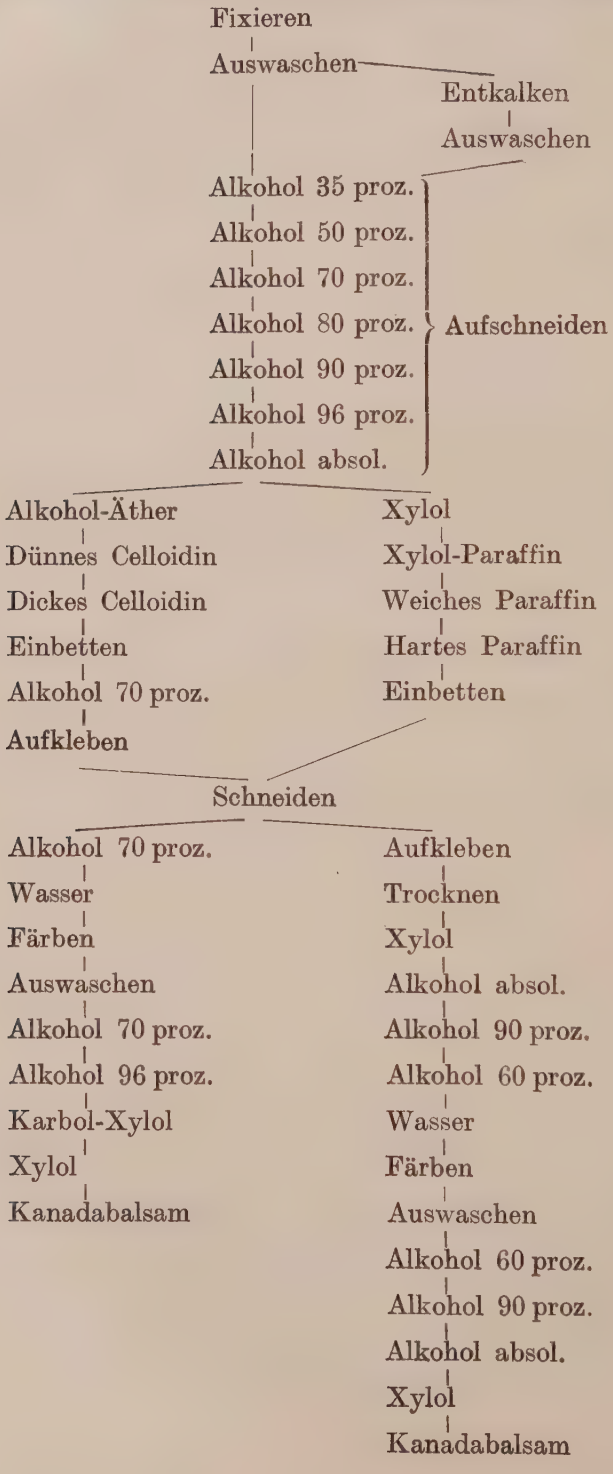
e) Lävulose. 10 g Lävulose gelöst in 8 ccm warmem dest. Wasser dient in besonderen Fällen als Einschlussmittel.

Literatur. M. Heidenhain, Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 25. 1908.

[1]) Grübler, Leipzig.

[2]) Beseler, Berlin, Schützenstrasse 66.

Schema zur Herstellung des mikroskopischen Präparates.



Neuntes Kapitel.

Darstellung der nervösen Elemente.

Die bisher besprochenen Methoden gestatten weiter nichts als eine einfache Kern- und Protoplasmafärbung, und geben, auf das Nervensystem angewandt, nur allgemeine Übersichtsbilder desselben. Zum genauen Studium der nervösen Elemente, nicht nur des Gehirns und Rückenmarks, sondern auch des N. opticus und der Retina sind gewisse elektive Färbemethoden nötig, die eine Darstellung der Markscheiden, der Achsenzylinder, der Ganglienzellen, der Neuroglia und der Neurofibrillen ermöglichen.

I. Markscheidenfärbung.

1. Weigertsche Markscheidenfärbung.

Die ursprünglich von Weigert angegebene Methode ist mehrfach verändert worden. Wir geben hier nur die Modifikation mit seinem Eisenhämatoxylinlack wieder:

1. Härten in einer 5 proz. Lösung von Kaliumbichromat im Thermostaten bei 37°. Die Lösung ist namentlich im Anfange mehrmals zu wechseln. 14 Tage bis einige Monate. [Die Methode ist auch anzuwenden bei vorheriger Formolfixierung (4—5 Tage) und darauf folgender Weigertscher Markscheidenbeize (Schnellbeize): Kaliumbichromat 5.0, Fluorchrom 2.0, Aq. dest. (kochend!), 100.0 im Brutofen 4—5 Tage.] Die weisse Substanz muss überall braun werden, nicht gelb.

2. Gründliches Auswaschen in 70 proz., öfters zu wechselndem Alkohol. Man stellt das Glas am besten in einen dunklen Schrank.

3. Celloidineinbettung. Schneiden.

4. Die Schnitte kommen auf wenigstens 24 Stunden bei 37° in die Kupferbeize:

Essigsaures Kupferoxyd		50.0
Essigsäure		50.0
Fluorchrom		25.0
Aq. dest.	ad	1000.0

(Diese Lösung muss bis zur Grünfärbung gekocht sein — ca. 1 Stunde.)

Man kann auch bei kleinen Stücken den Celloidinblock in toto kupfern, nur muss man ihn dann 48 Stunden warm in der Beize stehen lassen.

5. Abspülen in 70 proz. Alkohol.

6. Färben 24 Stunden oder über Nacht in einer Mischung von gleichen Teilen:

a) Hämatoxylinstammlösung (Hämatoxylin 1.0, Alkohol 9.0) 10.0, Alkohol 96 proz. 90.0

b) Liq. ferri sesquichlorati (Pharm. germ.), 4 proz. Lösung in Wasser[1]).

Die Mischung wird erst zum Gebrauche hergestellt und muss tüchtig durcheinander gerührt werden. Abspülen in Wasser.

7. Differenzieren in:

Borax	2.0
Ferricyankalium	2.5
Aq. dest.	100.0

Anfangs benutzt man die Lösung stark verdünnt, dann mit geringerem Wasserzusatz, zuletzt eventuell rein. Die Schnitte müssen wenigstens 24 Stunden in öfters zu wechselndem Wasser liegen bleiben, dem man einige Tropfen von Lithion carbon. zusetzen kann.

8. Dann Alkohol 70 proz., Alkohol 96 proz., Karbolxylol 1 : 3, Xylol, Kanadabalsam.

Bei dieser Färbung werden die Markscheiden prachtvoll dunkelblau und heben sich von einem absolut weissem Grunde ab. Degenerierte Heerde fallen durch ihre Nichtfärbung auf. Kurze Nachfärbung mit der van Gieson'schen Lösung ist möglich, nur darf man dann die Schnitte in dem Boraxferricyankaliumgemisch nicht fertig differenzieren, da die Pikrinsäure des van Gieson'schen Gemisches Farbe aus den Markscheiden auszieht.

2. Die Palsche Modifikation der Weigertschen Färbung.

1. Fixieren in Müller scher Flüssigkeit oder Kal. bichrom. 2—5 proz. Härten in Alkohol von steigender Konzentration. Celloidineinbettung.
2. Schneiden; zeigen die Schnitte sich nicht genügend braun, sondern haben sie einen Strich ins Grüne, so kommen sie noch auf einige Stunden in $^1/_2$ proz. Chromsäure oder in eine 2—3 proz. Kalium bichromicum-Lösung. — Alkohol 70 pCt.

[1]) Die ursprüngliche Weigert sche Hämatoxylinlösung bestand aus:

9 Teilen Lösung a. (konzentr. Lithion carb. Lösung 7 com, Aq. dest. 93 „

1 Teil Lösung b. (Hämatoxylin 1,0 Alkohol absol. 10,0

Beide Lösungen werden erst kurz vor dem Gebrauch vermischt. Die Lösung b muss mindestens ¼ Jahr alt sein.

3. Färben in Weigert scher Hämatoxylinlösung (cf. S. 100, Anm.) 24—28 Stunden. (Im Brutofen nur etwa 1 Stunde.)
4. Auswaschen in Wasser, eventuell mit Zusatz von Lithium carbonic. 1—2 pCt., bis die Schnitte tiefblau gefärbt erscheinen.
5. Differenzieren in einer frisch bereiteten 0,25 proz. Kaliumhypermanganatlösung $^1/_2$—3 Minuten. Die ganze Substanz erscheint dann gelb.
6. Auswaschen. Weitere Differenzierung in:
   Acid. oxalic. 1,0
   Kal. sulfuros. 1,0
   Aq. dest. 200,0
   auf $^1/_2$—3 Minuten. Die ganze Substanz entfärbt sich hierin sehr schnell, die weisse erscheint blauschwarz, andernfalls mögen die Schnitte nochmals in die Kal. permangan.-Lösung und Oxalsäureflüssigkeit gebracht werden.
7. Auswaschen; eventuell bringt man die Schnitte jetzt noch auf 5—30 Minuten in eine starke Lithionlösung, wodurch die Färbung intensiver wird; nochmaliges Auswaschen.
8. Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

Nach vollendeter Differenzierung erscheinen die markhaltigen Fasern schwarz, das übrige Gewebe farblos.

Nach gründlichem Auswaschen kann man noch mit Karmin und Orange G. nachfärben.

Diese Methode bietet keinen Vorteil vor der angegebenen Weigert-schen Färbung und hat ausserdem den Nachteil, dass die Resultate unsicherer sind.

3. Die Modifikation nach Kultschitzky.

1. Härten der Objekte wie bei Weigert in Müller-scher Flüssigkeit oder Formol mit nachfolgender Markscheiderbeize.
2. Celloidineinbettung, Schneiden.
3. Färben der Schnitte (12—24 Stunden) in einem Gemisch von 10 proz. Hämatoxylinlösung (in Alkoh. absol. gelöst) 10.0, 2 proz. Essigsäure 90.0.
4. Direktes Übertragen in die Differenzierungsflüssigkeit:
   Gesättigtes Lithionwasser 100,0
   1 proz. Lösung von Ferricyankalium 10,0

Die Differenzierung geht sehr langsam (mehrere Stunden). Kontrolle unter dem Mikroskop. Zwei bis dreimaliges Wechseln der Differenzierungsflüssigkeit.

5. Gründliches Auswaschen in Leitungswasser.
6. Alkohol, Xylol, Balsam.

Diese Methode ist ebenso gut wie die Weigert'sche. Ein Vorzug ist, dass das Kupfern wegfällt, dass die Schnitte nicht so brüchig werden, und dass eine Überdifferenzierung kaum eintritt.

Will man den gelblichen Grund der Präparate entfärben, so verfährt man nach Wolters folgendermassen:

1. Färben in essigsaurer Hämatoxylinlösung (12—24 Stunden).
2. Eintauchen der aus der Farbe kommenden Schnitte in Müller-sche Flüssigkeit.
3. Übertragen in eine $^1/_3$ proz. Lösung von übermangansaurem Kali.
4. Weiterbehandlung wie bei der Palschen Modifikation (s. S. 100).

4. Die Marchi'sche Methode.

Im Gegensatz zu den bisher angeführten gewissermassen negativen Methoden, bei denen die Nervendegenerationen durch ihre Nichtfärbung auffallen, besitzen wir in der Marchi'schen Methode ein vorzügliches Mittel, um degenerierte Heerde durch das Fettfärbemittel Osmiumsäure positiv darzustellen.

Ihre Anwendung gestaltet sich für das Auge (Schreiber), folgendermassen:

1. Fixieren der möglichst kleinen Sehnervenstücke in 10 proz. Formol-Müller (1:2) 24 Stunden lang. (Sollen die Sehnervenstümpfe im Zusammenhang mit dem Bulbus fixiert werden, so nimmt man mit Rücksicht auf den Bulbus das Formol und die Müller'sche Flüssigkeit zu gleichen Teilen.)

2. Übertragung in Müller'sche Flüssigkeit für 4—8 Tage.

3. Übertragung für 6—8 Tage in eine reichliche Menge des mindestens einmal zu wechselnden Marchi-Gemisches:

Müller'sche Flüssigkeit 2 Teile,
1 proz. Osmiumsäure 1 Teil.

Das Präparat soll auf Glaswolle liegen!

4. 24—28 stündiges Auswaschen in fliessendem Wasser.

5. 24 stündiges Härten in mehrfach zu wechselndem Alkohol 96 proz.

6. Alkohol absol. (3 Stunden).

7. Äther-Alkohol (3 Stunden).

8. Dünnes Celloidin (12 Stunden).

9. Dickes Celloidin (24 Stunden).

10. Ausgiessen des Objektes, Nachhärten in 80 proz. Alkohol, Schneiden (20—30 μ) und Einschluss der Präparate in Kanadabalsam mit möglichster Beschleunigung, weil diese Prozeduren ebenso wie die Alkohol- und Celloidinbehandlung eine deletäre Wirkung auf Marchi-Material ausüben.

Bei dieser Methode werden die Markscheiden der degenerierten Nerven wie die Zerfallsprodukte derselben intensiv schwarz gefärbt. Alles andere erscheint hellgelb, manchmal mit grünlichem

Schimmer. Störend wirken häufig dunkle Pünktchen und gröbere Niederschläge im Präparat.

Eventuelle Nachfärbung mit dem van Gieson'schen Gemisch.

II. Färbung der Achsenzylinder und der Neurofibrillen.

Obgleich es eine grosse Anzahl von Methoden zur Darstellung der Achsenzylinder gibt, so ist doch keine einzige darunter, welche die Achsenzylinder mit gleicher Sicherheit elektiv färbt, wie dies bei den Methoden der Markscheidenfärbung der Fall ist.

1. Methode von Apathy.

Fixation in Sublimat oder Sublimatgemischen. Entfernung des Sublimats durch Jodjodkalium (12 Stunden). Direkte Übertragung in Alkohol 90 proz. (8—12 Stunden), ebenso lange in Alkohol, welcher 1 pCt. Jodkali und ½ pCt. Jod enthält. Entwässern. Chloroform-Paraffin oder Celloidin. Aufgeklebte Schnitte werden mit Chloroform entparaffiniert und nach Behandlung mit absol. Alkohol in Wasser für einige Stunden eingelegt. Imprägniert werden die Schnitte sodann durch Einstellen der Objektträger in 1 proz. Lösung von Aurum chloratum flavum für 12—24 Stunden. Nach Abspülen in Wasser werden sie in 1 proz. Ameisensäure 6—8 Stunden bei heller Beleuchtung und nicht zu hoher Temperatur eingelegt, in Wasser abgespült, entwässert, in Chloroform aufgehellt und in Kanadabalsam eingeschlossen.

Die Fibrillen erscheinen dunkelblau bis schwarz auf hellem Grunde.

Während diese Methode besser bei wirbellosen Tieren anwendbar ist, scheint sie bei Wirbeltieren öfters zu versagen als die

2. Methode von Bethe.

1. Netzhäute kommen 6 Stunden in Salpetersäure 3 pCt. oder 5 pCt.
2. Direktes Übertragen in Alkohol 95 proz.
3. Einen Tag einlegen in:
   Ammoniak 1 Teil,
   Wasser 3 Teile,
   96 proz. Alkohol 8 Teile.
4. 96 proz. Alkohol (6—12 Stunden).

5. 12—24 Stunden in:
konzentr. Salzsäure 1 Teil,
Wasser 3 Teile,
96 proz. Alkohol 10 Teile.

6. Alkohol (10—24 Stunden).

7. Wasser (2—6 Stunden).

8. 24 Stunden in einer 4 proz. Lösung von weissem Ammonium molybdaenicum.

9. Abspülen in Wasser. Alkohol 96 pCt. Paraffineinbettung. Schneiden. Aufkleben. Entparaffinieren. Destillertes Wasser.

10. Auf dem Objektträger wird eine Wasserschicht aufgeschüttet und er mit letzterer für 2—10 Minuten in den Wärmeschrank bei etwa 60° C. eingestellt.

11. Nach Abgiessen des Wassers wird sodann in der gleichen Weise durch Aufschichten im Brutschrank mit Toluidinblau (1:3000) gefärbt.

12. Differenzieren in 96 proz. Alkohol.

13. Entwässern. Balsam.

Ausser den Fibrillen sind nur die Kerne dargestellt.

Was B e t h e für seine Methode überhaupt angibt, die ausserordentliche Ungleichheit der Erfolge, das trifft für die Netzhaut in besonders hohem Masse zu. Am besten gelingt sie noch bei der Netzhaut des Pferdes. (E m b d e n.)

3. Methode nach Bethe und Mönkeberg.

Zur Neurofibrillenfärbung.

1. Fixieren im Dunkeln des möglichst frischen Materiales (N. opticus) 24 Stunden in:

konzentr. Sublimatlösung
1 pCt. Osmiumsäure
dest. Wasser
} je ein Teil

2. Auswässern in mehrmals zu wechselndem dest. Wasser, 24 Stunden.

3. Härten in 80—95 proz. Alkohol beliebig lange.

4. Wässern in dest. Wasser, 6 Stunden.

5. Einlegen in eine Lösung von: Natr. bisulfur. pur. 2 pCt., zu je 10 ccm. 2—4 Tropfen Salzsäure (6—12 Stunden).

6. Auswaschen in dest. Wasser.

7. Härten in steigendem Alkohol u. s. w. Einbetten in Paraffin von 56 °.

8. Schnitte von 1—2 μ mit Eiweissglyzerin aufkleben.

Färben:

1. Nach Entfernung des Paraffins lässt man etwa 10 Minuten eine Lösung von Ammon. molybdaen. 2 proz. bei ca. 30° auf die Schnitte einwirken.

2. Mehrmaliges kurzes Abspülen mit dest. Wasser.

3. Färben nach Bethe 5 Minuten lang bei 50—55° mit Toluidinblau 1:1000 (am Optikus besser mit einer kalten Lösung von Toluidinblau 1:20 000 12—24 Stunden).

4. Abspülen und dann fixieren mit Ammon. molybdaen. 2—4 pCt. etwa 1 Minute.

5. Abspülen, Entwässern und Einbetten in Kanadabalsam. Die Präparate sind gegen Licht geschützt aufzubewahren.

Man übe sich zunächst an einem Material, das die Primitivfibrillen besser darstellen und erkennen lässt als d. Optikus, z. B. am Ischiadicus, bei dem die Methode verhältnismässig leicht ist. Zwischen den aufgeschnittenen osmierten Markscheiden sind die Achsenzylinderfibrillen distinkt blau gefärbt. Leichenmaterial ist für die Methode unbrauchbar. Schon 1 Stunde nach dem Tode versagt es. Nur Stücke, die bei Enukleationen gewonnen werden, und noch lebenswarm fixiert werden, geben gute Resultate. Die Dura löst man besser ab, da sie beim Einbetten zu hart wird, um die nötige Feinheit der Schnitte (1 μ) zu erlauben. Auch empfiehlt es sich, vor der Fixation den Optikus mehrfach der Länge nach zu spalten (ohne Quetschung!). Dann spannt man solche Sehnervenstücke am besten mit Igelstacheln derart auf Kork auf, dass die Fixationsflüssigkeit den Nerv von allen Seiten frei umspülen kann. (Bartels.)

4. Methoden von Ramon y Cajal.

Zur Neurofibrillenfärbung.

I. Methode.

1. Frische Netzhautstücke werden mit 1.5 proz. (0.75—3 proz.) Lösung von Arg. nitr. 3 Tage lang (bei Lichtabschluss durch schwarzes Papier) im Wärmeofen (32° C.) behandelt.

2. Ganz kurzes Abspülen in dest. Wasser.

3. Übertragen für 24 Stunden in:

Aq. dest. 100 ccm,
Hydrochinon oder Pyrogallussäure 1 g,
reines Formol 5—10 ccm.

4. Auswaschen in dest. Wasser (einige wenige Minuten).

5. Steigender Alkohol. Einbettung. Die Fibrillen erscheinen braun auf gelbem Grunde.

II. Methode.

1. Fixierung 24 Stunden in:
   96 proz. Alkohol 50 ccm,
   Ammoniak 5 Tropfen.
2. Auswaschen in mehrfach gewechseltem dest. Wasser.
3. Übertragen in eine 1 proz. Lösung von Arg. nitr. auf 4 Tage bei 30° C.
4. Weiterbehandlung wie bei der I. Methode.

Die 2. Methode wendet Cajal hauptsächlich für die Ganglienzellen und Horizontalzellen an, setzt der Fixierungsflüssigkeit auch wohl 5 Teile Glyzerin auf 100 Teile Flüssigkeit zu.

Hauptsache für das Gelingen der Methode ist genügende Reifung. Aber trotzdem werden nicht alle Präparate gleich gut.

5. Methode von Bielschowsky und Pollack.

1. Formalinfixierung. (Der Bulbus muss äquatorial durchschnitten, die Netzhaut abgelöst werden.)
2. 2 pCt. Arg. nitr. (24—48 Stunden).
3. Abspülen in dest. Wasser.
4. Übertragen in folgende Lösung: 20 ccm der 2 pCt. Arg. nitr. werden mit 2—3 Tropfen einer 40 proz. Natronlauge versetzt, wobei schwarzbraunes Silberoxyd ausfällt. Nun setzt man tropfenweise Ammoniak hinzu, bis der Niederschlag völlig gelöst ist. In dieser stets frisch zu bereitenden Lösung bleiben die Schnitte ½—1 Stunde, bis sie einen schwarzbraunen Ton angenommen haben.
5. Kurzes Abspülen in dest. Wasser.
6. 20 proz. Formalinlösung (12—24 Stunden). Es tritt vollständige Schwärzung ein.
7. Schnelles Entwässern. Paraffineinbettung.
8. Vergoldung der Schnitte: Zu je 10 ccm Aq. dest. kommen 2—3 Tropfen einer 1 proz. Goldchloridlösung und sodann noch 2—3 Tropfen Eisessig. Dauer der Vergoldung ca. ½ Stunde, bis der Grundton rötlich violett ist.
9. Fixierung der Goldimprägnierung in einer 5 proz. Natriumthionsulfatlösung, der auf je 10 ccm 1 Tropfen saure schwefelsaure Natronlösung zugesetzt ist (mehrere Sekunden).
10. Abspülen mit Wasser; Entwässern, u. s. w.

Ausser den Achsenzylindern werden durch diese Methode auch die intrazellulären Fibrillen und die sog. Golginetze in einem schwarzen oder braunschwarzen Ton dargestellt, der sich von dem matt rötlichen oder violettem Grunde scharf abhebt. Auch fibrilläres Bindegewebe sowie einzelne Gliafäserchen färben sich manchmal mit.

6. Neurofibrillenmethode nach Lugaro.

Diese besteht in einer 24 stündigen Fixation der Netzhäute in einer Lösung von 6 Teilen reiner Salpetersäure und 10 Teilen Formol in 100 Teilen dest. Wasser. Es wird dann ca. $^1/_2$ Stunde ausgewaschen, dann 24 Stunden in einer 5 proz. Lösung von molybdänsaurem Ammoniak behandelt. Alsdann wird wieder ausgewaschen, schnell entwässert und durch Chloroform in Paraffin übergeführt. Die Schnitte, welche nicht über 5 μ dick sein dürfen, kommen in Chloroform oder Alkohol und werden mehrfach in oft erneuertem Wasser gründlich gewaschen und in 4proz. Lösung von Argentum colloidale $^1/_2$ Stunde lang gefärbt. Alsdann wird gewaschen und in folgender Lösung getont: 1 Teil Goldchlorürlösung 2 pro Mille, 1 Teil 2 proz. Schwefelammoniumlösung und 8 Teile dest. Wasser. Dann werden die Schnitte gewaschen, schnell entwässert und in Balsam eingeschlossen. (Rebizzi).

III. Färbung der Ganglienzellen.

Die Nervenzellen werden gefärbt mit der Heidenhain-schen Eisenhämatoxylinmethode, mit der Methode von Unna-Pappenheim, mit polychromen Methylenblau, mit der Ehrlich'schen Triazidfärbung, mit der Romanowsky-Ziemann-Färbung, ferner durch die vitale Methylenblaumethode und die Methode von Golgi. Die endozellulären Neurofibrillen durch die verschiedenen Neurofibrillenfärbungen. Spezifisch aber sind folgende Ganglienzellfärbungen.

1. Nissl'sche Methode.

Um den feineren Bau der Nervenzellen zu studieren, dient vor allem die Nissl'sche Färbung. Sie bringt die Granulastrukten der Ganglienzellen und deren Abweichungen vom normalen Bilde in ausgezeichneter Weise zur Darstellung. Ausserdem färbt sie die Gliazellen mit ihren Ausläufern, die Zellkerne und die chromophile Substanz der Plasmazellen. (Nissl, Bach, Birch-Hirschfeld.)

Die Methode gestaltet sich folgendermassen:

1. Kleine (1 cm dicke) Stücke kommen lebensfrisch (ohne vorherige Berührung mit Wasser) in eine 50—60 fache Menge

96 proz. Alkohol. (Über das Altland'sche Gemisch vgl. S. 40, über Sublimatfixation S. 30). Bei eingetretener Trübung ist der Alkohol zu wechseln, spätestens muss dieses aber nach 24 Stunden geschehen.

2. Nach etwa 5 Tagen Aufkleben der 6—8 mm hohen Blöcke mittels Gummi arabikum, der in 96 proz. Alkohol schnell erstarrt.

3. Schneiden 10—12 μ. Die Schnitte kommen aus dem 96 proz. Alkohol, völlig ausgebreitet, in folgende Lösung:

Methylenblau B. Patent (v. Carl Buchner u. Sohn, München) 3.75,
Geschabte venetianische Seife 1,75,
Destilliertes Wasser 1000,00.

Die Farblösung, die mindestens ¼ Jahr alt sein muss, wird vor dem Gebrauch geschüttelt und filtriert. Der Schnitt wird auf der Farblösung schwimmend erhalten, und diese bis zum Aufsteigen des ersten Luftbläschens erwärmt.

Man kann auch in einer konzentr. wässerigen Fuchsin- oder Magentalösung färben, 24 Stunden lang, oder in einem Uhrschälchen über der Spiritusflamme bis zur Dampfentwicklung.

4. Differenzieren in:

Anilinöl, wasserhell (Höchster Farbwerke) 10 Teile
96 proz. Alkohol 90 Teile

Die Flüssigkeit muss jedesmal frisch bereitet werden. Der Schnitt bleibt darin so lange, bis man ihn auf dem Spatel völlig ausgebreitet hat, dann überträgt man ihn auf den Objektträger, lässt die überflüssige Flüssigkeit ablaufen, trocknet mit Filtrierpapier und

5. bedeckt den Schnitt mit Ol. Cajeputi. Entfernung des überschüssigen Öles, abtrocknen.

6. Abspülen mit Benzin, unter Vermeidung von Vertrocknung. Abgiessen des überflüssigen Benzins.

7. Bedecken des noch nassen Schnittes mit Xylolkolophonium. (Ein 50 g fassendes Gläschen wird zur Hälfte mit gewöhnlichem Kolophonium, sodann ganz mit Xylol gefüllt. Man lässt es offen unter einer Glasglocke stehen und benutzt die oberflächliche Schicht, die man abgiesst.) Zum Auflegen des Deckgläschens erwärmt man den Objektträger ganz leicht, bis das Xylolkolophonium dünnflüssig ist und wiederholt dies unter leichtem Druck auf das Deckglas nochmals, bis man kein Harz mehr herausdrücken kann.

Die Präparate müssen vor Licht geschützt aufbewahrt werden.

2. Methode von Lenhossék (Toluidinblaufärbung).

Modifikation einer älteren Methode: Fixieren im Rabl schen Gemisch (Pikrinsäure, Sublimat aa). Einbetten, Schneiden. Färben in wässeriger Toluidinblaulösung (1: 2500) über Nacht. Kurze Differenzierung in absol. Alkohol. Karbolxylol, Kanadabalsam.

3. Methode von Lenhossék (Thioninfärbung).

Fixieren in konzentr. Sublimatlösung oder in 20 proz. Formalin. Nachhärtung in Alkohol. Paraffineinbettung. Färben in konzentr. wässeriger Thioninlösung (5 Minuten). Schnelles Abspülen. Differenzieren in Anilinöl-Alkohol (1: 9). Cajeputöl, Xylol, Xylolkolophonium.

4. Die Methode nach Held.

Held hat für die Erkennung der Struktur der Nervenzellen und ihrer Fortsätze eine Doppelfärbung angegeben; sie sucht speziell die zwischen den Nissl 'schen Körpern befindliche ungefärbt bleibende Protoplasmamasse darzustellen.

Zur Fixierung empfiehlt Held Pikrinschwefelsäure (Kleinenberg 'sche Flüssigkeit: konzentr. wässerige Pikrinsäurelösung 100,0, konzentrierte Schwefelsäure 2,0, Aq. fontana 300,0) 24 Stunden, auswaschen in Wasser oder zunächst in 20 pCt. Alkohol allmählich steigend (von 10 zu 10 pCt.) bis zum absoluten Alkohol, Alkoholxylol, Paraffin.

1. Paraffineinbettung; die Schnitte (1—10 μ) werden mit dünnem Alkohol aufgeklebt.

2. Färben mit:

Erythrosin pur.	1,0
Aq. dest.	150,0
Eisessig	2 gtt.

1 bis 2 Minuten unter leichtem Erwärmen.

3. Abwaschen in Wasser; Nachfärben mit folgender Doppellösung:

a) wässerige Azetonlösung (1: 20)

b) Nissl 'sche Methylenblaulösung aa.

Man färbt so lange unter starkem Erwärmen, bis der Azetongeruch geschwunden ist.

4. Erkalten lassen; differenzieren in 0,1 proz. Alaunlösung, bis der Schnitt wieder rötlich wird (einige Sekunden bis Minuten).

5. Abspülen, Alkohol absol., Xylol, Benzinkolophonium (wie bei Nissl).

Die Nissl 'schen Körperchen erscheinen blau oder leicht violett, die Zwischensubstanz leuchtend rot gefärbt, rot auch die Kernmembran und Kernmasse, blau die Kernkörperchen, Nebennukleolen violett.

5. Die Methode von Rosin.

Färbung mit Ehrlich's Neutralrot[1]). Dieselbe ist für die Retina ebenso brauchbar wie die Färbungen mit Methylenblau, Thionin und Toluidinblau, aber in ihrer Einfachheit ihnen überlegen. (Abelsdorff.)

Die in Alkohol oder Formol fixierten Retinae werden losgelöst, mit Chloroform durchtränkt und in Paraffin eingebettet. (Auch Celloidineinbettung ist möglich.) Die 5—10 μ dicken Schnitte werden mit dest. Wasser auf den Objektträger geklebt und nach Entfernung des Paraffins ½—24 Stunden in einer gesättigten wässerigen Lösung von Ehrlich's Neutralrot gefärbt.

Eine Überfärbung tritt hierbei nicht ein, sondern mit der Länge der Einwirkung nimmt die Intensität der Gelbfärbung der Zwischen- (acidophilen) Substanz zu. Der überflüssige Farbstoff wird durch sorgfältiges Spülen mit dest. Wasser entfernt, hierauf werden die Schnitte in absol. säurefreien Alkohol entwässert und zugleich differenziert, in Xylol aufgehellt, und in Xylolkanadabalsam eingebettet.

Die Nissl'schen Körperchen erscheinen rot, die Zwischensubstanz gelb gefärbt, ebenso der Kern, während Kernmembran und Kernkörperchen rot sind.

IV. Färbung der Neuroglia.

Wenn es einem nicht auf eine vollständige elektive Färbung der Glia ankommt, kann man die Weigert'sche Modifikation der van Gieson-Methode anwenden. Sonst ist zu empfehlen

1. Die Neurogliafärbung nach Weigert.

Dieselbe kann bis zu einem gewissen Grade elektiv genannt werden. Es färben sich nämlich im Allgemeinen nur die Neurogliafasern und ebenso die Kerne blau; daneben aber auch die roten Blutkörperchen, und im Auge die Müller'schen Stützfasern, die Körnerschichten und einzelne Ganglienzellen in der Nervenzellenschicht, ausserdem die Fasern der Zonula Zinnei. Bei der angegebenen Kontrastfärbung wird das Bindegewebe blauviolett, die gröberen Achsenzylinder, Ganglien- und Ependymzellen gelblich. Die Methode gelingt gewöhnlich nur beim N. opticus und der Retina des Menschen, selten bei Säugetieren. Auch für pathologische Zwecke ist sie sehr brauchbar; man sieht, dass überall

[1]) Bei *Grübler* in Leipzig, bei *Altmann* in Berlin.

da ein dichtes Fasergewirr von Neuroglia hineinwuchert, wo Nervensubstanz zu Grunde gegangen ist. Trotz peinlicher Beobachtung aller Vorschriften kommt es aber manchmal vor, dass die Resultate unbefriedigend sind.

1. Fixierung und Beizung in folgendem Gemisch:

Chromalaun (oder Fluorchrom)	2.5
Wasser	100.0
gewöhnliche Essigsäure	5.0
neutral. essigs. Kupfer	5.0
Formalin	10.0

(Man löst den Chromalaun in Wasser und bringt die Lösung in einem emaillierten Kochtopf zum Kochen. Dann dreht man die Flamme aus und fügt zuerst die Essigsäure hinzu, dann das fein gepulverte neutrale essigsaure Kupferoxyd unter stetem Umrühren mit einem Glasstab, und schliesslich das Formalin.)

In dieser Lösung verweilen die Stücke 8 Tage oder länger. Wechseln der Lösung am 2. Tage.

Anm. Will man eventuell die Präparate auch nach anderen Methoden behandeln, z. B. nach Marchi, Golgi, Nissl oder der Markscheidenmethode, so fixiere man die Stücke in 10 pCt. Formol (½ cm dicke Stücke 4 Tage lang), das man am 2. Tage wechselt. Dann kommen dieselben in obige Beize ohne den Formalinzusatz auf 8 Tage bei Zimmertemperatur, auf 4—5 Tage bei Bruttemperatur.

2. Nachhärten in Alkohol. Celloidineinbettung. Schneiden. (20 μ.)

3. Reduktion der Schnitte:

a) ⅓ proz. Lösung von Kal. hypermangan. (10 Minuten.)

b) Abspülen in Wasser.

c)

Chromogen	5.0	90 ccm
Acid. formic. (1.20 spez. Gew.)	5.0	
Aq. dest.	100.0	

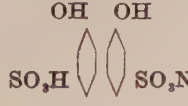
zu filtrieren und darauf vor dem Gebrauch Zusatz von 10 proz. Natriumsulfitlösung 10 ccm

2—4 Stunden. (Schon nach wenigen Minuten tritt eine Entfärbung der vorher gebräunten Schnitte ein.)

d) Abspülen in Wasser.

4. 5 proz. wässerige Chromogenlösung[1]) (10—12 Stunden)-

[1]) Chromogen ist eine Naphthalinverbindung, nämlich das saure Natronsalz der 3—6 Disulfosäure des 1—8 Dioxynaphthalins.



als Kontrastfärbung. — Filtrieren! (Schimmelt leicht!) Abspülen.

Anm. Wendet man die Kontrastfärbung nicht an, sondern färbt direkt nach der Reduktion mit der gleich anzugebenden Methylviolettoxalsäurelösung, so erscheinen die Neurogliafasern blau, das Bindegewebe farblos. Kommt es aber auf diese Farblosigkeit nicht an, so empfiehlt sich die Kontrastfärbung, bei der zwar das kollagene Gewebe blau mit einem Stich ins Violette wird, aber andererseits die Neurogliafasern viel dunkler werden, die feinsten deutlich hervortreten, und die Nervenzellen, Ependymzellen und gröberen Achsenzylinder einen gelblichen Ton annehmen.

5. Färben 1 Minute lang in:
heiss gesättigt. alkohol. (70—80 proz.) Methylviolett lösung 100.0
5 proz. Oxalsäurelösung 5.0.

Gefärbt, differenziert u. s. w. werden die Schnitte auf dem Objektträger. Damit sie keine Falten bilden, nehme man sie aus einer Schale mit Wasser mit dem vorher mit Alkohol abgeriebenen Objektträger auf. Die Methylviolettlösung wird nun auf den mit Filtrierpapier abgetrockneten Schnitt aufgeträufelt, die Färbung erfolgt fast momentan. (Kann man die Färbung nicht sofort vornehmen, so bewahrt man die Schnitte, da bei längerem Liegen in Wasser ihre Färbbarkeit schwächer wird, in einem Gemisch aus 10 Teilen 5 proz. Oxalsäurelösung und 90 Teilen 80 proz. Alkohol auf.)

6. Abtrocknen des Schnittes.

7. Momentanes Auftropfen einer gesättigten Lösung von Jod in 5 proz. Jodkaliumlösung.

8. Abtrocknen.

9. Differenzieren in Anilin
Xylol $\overline{aa}$ (mehrfach wechseln)
(10—15 Minuten.)

10. Gründliches Auswaschen in mehrfach zu wechselndem Xylol, um den letzten Rest des Anilins, gegen das die Neuroglia sehr empfindlich ist, zu entfernen.

11. Kanadabalsam (oder Kolophoniumterpentinlack).

Ein Nachteil der Weigertschen Gliafärbung ist es, dass man von den dafür fixierten Schnitten keine Präparate mit anderen Färbungen herstellen kann. Dieses gelingt, wenn man die Vorschrift von Weigert bis zu einem gewissen Grade umdreht: statt „Formolfixierung — Beizung — Einbettung — Schneiden — Weiterbehandlung der Schnitte nach Weigert" verfährt man folgendermassen: „Formolfixierung — Einbettung — Schneiden — Beizung der Schnitte für 1—3 Tage in Weigerts grüner

Gliabeize bei 36 ° — Weiterbehandlung nach Weigert. Auf diese Weise kann man von demselben Blocke die verschiedensten Färbungen erhalten. (Hoppe).

Um abgeblasste Neurogliapräparate (dieselben halten sich in der Laboratoriumsluft schlecht) wieder aufzufärben, verfährt man folgendermassen: Über einer ganz kleinen Spiritusflamme wird ganz allmählich der Kanadabalsam soweit verflüssigt, dass man, während der Objektträger noch über die Flamme gehalten wird, das Deckglas wegschieben kann, ohne das Präparat im geringsten zu schädigen; den Balsam entfernt man aus dem Schnitte mit Xylol vollständig (Einwirkung etwa 5 Minuten). Mit Oxalsäurealkohol (0,5 Oxalsäure auf 100 Alkohol 70 pCt) werden die Farbreste bis zur völligen Farblosigkeit ausgezogen, dann kann man von neuem färben. (Homburger).

2. Neurogliafärbung nach Mollory.

Dieselbe unterscheidet sich dadurch von der komplizierten Weigert'schen Färbung, dass sie sich nach gewöhnlicher Formalinbehandlung, also in der gleichen Schnittserie abwechselnd mit van Gieson- und anderen Färbungen anwenden lässt. Die Methode färbt sehr prägnant, aber sie differenziert nicht. (Birch-Hirschfeld, Schaudigel.)

1. Fixieren von kleinen Stückchen in Formalin (10 proz.), (4 Tage.)
2. Übertragen in konzentr. wässerige Pikrinsäurelösung (4 Tage.)
3. Übertragen in 5 proz. Lösung von doppeltchromsaurem Ammonium (4—7 Tage.)
4. Alkohol.
5. Celloidin.
6. Oxydation in $^1/_3$ proz. Kal. hypermangan.
7. Mehrfaches Auswaschen.
8. Reduktion in 5 proz. Oxalsäurelösung (einige Stunden).
9. Färbung der Schnitte (20—60 Minuten) in einer einige Wochen lang dem Sonnenlichte ausgesetzten und vor dem Gebrauch filtreirten Lösung von:

Hämatoxylin	0,1	g
10 proz. Phosphorwolframsäure	20	ccm
Wasserstoffsuperoxyd	0,2	,,
Wasser	80	,,

10. Kurz abspülen in Wasser. Origanumöl. Balsam.

Ausser der Neuroglia sind dann die Kerne und Fibrin blau, die Achsenzylinder und Ganglienzellen sind hellrosa, Bindegewebe dunkelrot gefärbt.

Differenziert man noch in 30 proz. alkohol. Lösung von Ferrum sesquichloratum, so ist nur die Glia (dunkelblau) dargestellt.

3. Neurogliafärbung nach Benda.

1. Fixieren in 90 proz. Alkohol (mindestens 2 Tage).
2. Verdünnte Salpetersäure (1 Vol. offizin. Salpetersäure auf 10 Vol. Leitungswasser, 24 Stunden).
3. 2 proz. Lösung von Kal. bichrom. (24 Stunden).
4. 1 proz. Chromsäurelösung (48 Stunden).
5. Auswaschen (24 Stunden).
6. Paraffineinbettung. Starke Erwärmung ist hierbei zu vermeiden.
7. Beizen in 4 proz. Eisenalaunlösung.
8. Abspülen.
9. Bernsteingelbe Lösung von sulfalizarinsaurem Natrium (Marke Kahlbaum, 24 Stunden).
10. Färben in 0,1 proz. wässeriger Lösung von Toluidinblau, Erwärmen bis Dämpfe aufsteigen, dann etwa 15 Minuren in der erkaltenden Lösung.
11. Eintauchen in absol. Alkohol.
12. Differenzieren in Buchenholzkreosot. Das Bindegewebe und die Achsenzylinder erscheinen rot, die Zellkerne und Glia blau.

Eine besondere und ausführliche Besprechung verlangen noch zwei Methoden, denen wir für die Erforschung des Nervensystems und speziell des Auges viele wichtige Aufschlüsse verdanken: Die Golgi'sche Methode und die Methylenblaufärbung.

V. Die Golgi'sche Methode.

Wer sich mit der Golgi'schen Methode und ihren Modifikationen befasst, der muss vor allen Dingen Geduld besitzen und darf sich nicht durch häufige Misserfolge abschrecken lassen. Bei Gelingen der Färbung erhält er dann auch sehr schöne, klare und präzise Bilder. Am leichtesten und konstantesten gelingt die Färbung am Rückenmark kleiner Säuger (Kaninchen, Meerschweinchenfoeten u. s. w.), verhältnismässig leicht auch am Nervus opticus.

Die Retina dagegen stellt der Reaktion die grössten Schwierigkeiten entgegen. Man tut daher gut, sich die Methode zuerst an leichten Objekten einzuüben, um sie dann an der Retina zu probieren.

Aber selbst der geübteste Techniker wird niemals sagen können, dass er mit Sicherheit eine Färbung erzielen kann, da die Methode zu launenhaft ist.

Man unterscheidet drei Anwendungsweisen der Golgischen Methode: 1. Die „langsame", 2. die „gemischte" und 3. die „rasche" Methode. Die beiden ersten sind zur Untersuchung des Nervensystems von erwachsenen Tieren und Menschen, die letzte für Embryonen und neugeborene oder auch junge Tiere angegeben worden. Die „rasche" Methode erfreut sich der grössten Beliebtheit.

1. Langsame Methode.

a) Kleine Stücke, 1—1½ cm gross, kommen in eine reichliche Menge einer 2 proz. Lösung von Kal. bichromicum, im Sommer 15—20 Tage, im Winter 1—1½ Monate. Die Flüssigkeit ist von Zeit zu Zeit zu erneuern und durch allmählich konzentriertere Lösungen — bis zu 5 pCt. — zu ersetzen. Dann übertragen in eine reichliche Menge einer 0,75 proz. Silbernitratlösung. Vorher wäscht man die Stücke in einer schwächeren, eventuell schon benutzten Silberlösung ab, bis kein Niederschlag von Chromsilber mehr erfolgt. In der Arg. nitr.-Lösung verbleiben die Stücke 24—48 Stunden oder länger; man kann dieselben auch bis zur Bearbeitung in Alkohol aufbewahren. Abschluss von Licht ist nicht nötig.

b) Grössere Stücke kommen statt in die Silberlösung in eine 0,5 proz. Sublimatlösung. Kleinere Objekte 8—10 Tage, grössere bis über 2 Monate. In der ersten Zeit ist die Sublimatlösung täglich zu wechseln, später nur dann, wenn die Lösung sich gelb färbt.

2. Gemischte Methode.

Am meisten von Golgi empfohlen. Die Objekte bleiben 3—4 Tage in der Kaliumbichromatlösung (aber auch 30 Tage schaden nichts), kommen dann in

Osmiumsäurelösung	1 pCt.	2,0
Kal. bichrom.	2 pCt.	8,0

3—8 Tage, dann in Arg. nitr. 0,75 pCt.

Die Stücke sind dann gewöhnlich so hart, dass sie sich ohne weitere Behandlung schneiden lassen. Man klebt sie mit gewöhnlichem braunen Leim oder Gummi auf Kork auf oder klemmt sie zwischen Hollundermark ein und spannt sie nach kurzem Verweilen in absolutem Alkohol in die Mikrotomklammer ein. Ist die Konsistenz nicht genügend, so wird in Alkohol absol. 2—3 Tage eventuell nachgehärtet. Retinae bette man in regelrechter Weise in Celloidin ein. Die Schnitte dürfen nicht zu dünn ausfallen. Dann gründliche Entwässerung der Schnitte in Alkohol absol., Nachbehandlung mit Kreosot und Terpentin (nach v. Lenhossék Nelkenöl, darauf flüchtiges Eintauchen in Xylol), Einschluss in Damarlack. Präparate ohne Deckglas aufheben, da sie sonst nach kurzer Zeit verderben.

3. **Rasche Methode.** (Golgi's processo rapido), die fälschlich als Cajal'sche bezeichnet wird, weil Ramón y Cajal sie ausschliesslich benutzt hat. Zur Untersuchung des Nervensystems von Embryonen und neugeborenen oder auch jungen Tieren.

Die Stücke 3—4 mm lang, kommen sofort in das Golgi-sche oder osmio-bichrom. Gemisch, bestehend aus:

1 proz. Osmiumsäure 1.0
3.5 proz. Kal. bichrom. 4.0

verweilen darin 2—7 Tage, und kommen dann in Arg. nitr. 0.75 pCt. Der Zusatz von einer minimalen Menge von Ameisensäure zu der Silberlösung, wie es Cajal und Van Gehuchten empfehlen, ist nicht nötig. Ältere Lösungen sind aber erfahrungsgemäss ganz frischen vorzuziehen.

Auf ein Stückchen von 3—4 mm Länge kommen wenigstens 10 ccm des Golgi'schen Gemisches. Im Winter stellt man die bedeckten Schälchen am besten auf den Wärmeschrank (25—35° C.) Unter allen Umständen müssen sie im Dunkeln stehen. Zuerst imprägniert sich meistens die Neuroglia, dann die Nervenzellen, zuletzt die Nervenfasern. In der Silberlösung bleiben die Stücke zwei Tage (4—6 Tage schaden auch nichts, aber nicht länger; nimmt die Silberlösung durch Auflösung des niedergeschlagenen Silbers eine schwache gelbliche Farbe an, so erneuere man dieselbe oder bearbeite das Präparat sogleich). Die Silberlösung braucht nicht im Dunkeln zu stehen, ja nicht auf dem Wärmeschrank!

Anm. Die schon einmal benützte Golgi lösung ist für die Behandlung anderer frischer Stücke unbrauchbar, kann aber für die weiter unten zu besprechende „doppelte Methode" verwendet werden, sowie auch dazu, die frischen Stücke darin etwas abzuspülen und sie von dem anhaftenden Blute zu befreien.

In der Regel sind die Stücke jetzt hart genug, dass man sie schneiden kann. Ist dies nicht der Fall, so ¼—½ stündige Nachhärtung in Alkohol absolutus. Überhaupt darf man die Stücke beliebig lange in Alkohol liegen lassen, nur muss er recht konzentriert sein, schwächerer Alkohol löst durch seinen Wassergehalt oft schon nach kurzer Einwirkungsdauer das Chromsilber auf. Auch muss er frei von Chloriden, von der so häufigen Verunreinigung des Alkohols sein, da diese auf den Niederschlag zerstörend wirken, indem sie dessen Silber an sich reissen.

Einbettung. Die regelrechte Paraffineinbettung ist ausgeschlossen, da das damit verbundene Erwärmen des Präparates einen Zerfall der Silberfiguren herbeiführt. Die regelrechte Celloidineinbettung ist zu umständlich, angesichts der Tatsache, dass die Resultate zu wenig konstant sind. In Celloidin eingebettete Präparate, die zum Erhärten desselben einige Stunden in Alkohol 70 bis 80 proz. gelegen haben, bekommen

bald einen grauweissen Ring rings um das Präparat, ein Zeichen, dass sie verderben. Also möglichst schnelle Verarbeitung! Am besten ist der Einschluss in Hollundermark: Die in Alkohol nachgehärteten Stücke kommen für ¼ Stunde in dicke Celloidinlösung. Aus dieser werden sie in ein ausgehöhltes Stückchen Hollundermark gelegt; man giesst noch etwas Celloidinlösung hinzu, lässt dieselbe einige Minuten antrocknen und bringt den ganzen Block für eine halbe Stunde in Spiritus 80 proz. Jetzt kann man bequem das Hollundermarkstück in die Mikrotomklammer einspannen und beliebig schneiden. Der Hollundermantel wird von den mit Spiritus 80 proz. aufgefangenen Schnitten am besten entfernt, indem man denselben am Rande mit einer Pinzette fasst und nun rasch in die Höhe hebt. Er löst sich hierbei meist ganz leicht von der Celloidinschicht los, welche mit dem eigentlichen Schnitt in Zusammenhang bleibt, damit aufgehellt und eingebettet wird.

Jeder Schnitt wird sofort unter dem Mikroskop auf den Erfolg der Imprägnation geprüft, und, wenn er gelungen, gleich in ein Schälchen mit absolutem Alkohol gebracht. Dünne Schnitte sind ausgeschlossen. Dicke zwischen 0,05 und 0,1 mm. An Schnitten, die zu dick ausgefallen sind, sieht man immer noch mehr, als an dünnen. Entwässern der Schnitte in Alkohol absol., oder bei zarten Objekten, die leicht auseinanderfallen, in Alkohol 96 proz. Aufhellen in Bergamott- oder Nelkenöl, dann Entfernung des Öls mit Xylol, da etwa anhaftendes Öl auf die Präparate in der Folge nachteilig wirkt. Einschluss in Damarlack oder Kanadabalsam.

Ein Deckgläschen darf auch bei diesen Präparaten nicht aufgelegt werden. Golgi wendet hölzerne Objektträger mit einem viereckigen Fensterchen an und bringt die Präparate auf ein Deckgläschen, das er, mit den Schnitten nach unten, über der Öffnung befestigt. Einfacher ist es, die Schnitte auf dem Deckgläschen einzubetten und dieses mit der von dem Präparate bedeckten Fläche nach unten entweder mit Kittköpfchen auf dem gewöhnlichen Objektträger zu befestigen oder auf 2 Glasleisten oder Streichholzstückchen aufzukleben. Natürlich muss das Präparat frei über dem Objektträger hängen, so dass zwischen letzterem und dem in Balsam eingeschlossenen Präparat noch freie Luft bleibt. Die Präparate müssen vor Licht und Wärme möglichst geschützt werden. Vor allem darf man sie nie den direkten Sonnenstrahlen aussetzen.

4. **Cajal'sche** oder **doppelte Methode.** (Imprégnation double.) Diese ist eine sehr wesentliche Verbesserung der Golgi'schen

Technik. Es gelingt mit dieser Methode, die sich mit Recht einer grossen Beliebtheit erfreut, manchmal bei Objekten, an denen eine einfache Behandlung ganz erfolglos war, noch sehr brauchbare Bilder zu erhalten. Aber auch bei einem relativen Erfolg der ersten Behandlung wird man sich doch immer dieses Verfahrens bedienen, indem die Imprägnation dadurch in der Regel an Reichhaltigkeit, an Vollständigkeit gewinnt, und namentlich auch viele Elemente, die mit der einfachen Methode garnicht darstellbar sind, zur Ansicht gelangen. Die Methode besteht darin, das schon einmal nach der raschen Golgi'schen Methode behandelte Stück zum zweiten Male derselben Prozedur zu unterwerfen, d. h. es dem Golgi'schen Gemische und der Silberlösung auszusetzen. Oft führt noch eine dritte Imprägnation zu dem gewünschten Erfolg.

Für den Erfolg der zweiten Imprägnation ist es durchaus nicht nachteilig, wenn man eventuell das Stück bei dem Schneiden schon mit Alkohol in Berührung gebracht hat. Man bedient sich zur zweiten Behandlung der schon einmal benützten Osmio-Bichromlösung, sofern sie nicht zu sehr verunreinigt ist und noch etwas Osmiumsäure enthält; oder man stellt sich eine neue her, die etwas weniger Osmiumsäure enthält. Cajal nimmt auf 20 T. Kal. bichrom. 2—3 T. Osmiumlösung. Die Stücke bleiben darin 2 Tage. In der Silberlösung lässt man die Stücke zweckmässig mehrere Tage.

5. Die **Cox'sche Modifikation** der Golgi'schen Sublimatmethode gibt dieselben schwarzen Bilder, nur mit dem Unterschied, dass sich dabei regelmässig fast alle Elemente, die im Schnitte enthalten sind, imprägnieren. Es ist dies in mancher Beziehung ein Vorteil, indem z. B. dadurch die topographische Anordnung von Zellenschichten, Fasergeflechten u. s. w. übersichtlicher zur Ansicht kommt, aber insofern ein Nachteil, als eben durch die Üppigkeit der Imprägnation das Studium der einzelnen Zellenindividuen unmöglich gemacht wird. (v. Lenhossék.)

Man gibt bei der Cox'schen Methode kleine Stückchen in folgendes Gemisch:

Kali bichrom. 5 pCt.	20.0
Sublimat 5 pCt.	20.0
Aqua destillata	30.0—40.0
Kal. chromicum flavum (von stark alkalischer Reaktion) 5 pCt.	16.0

Die Kaliumbichromatlösung darf erst dann hinzugefügt werden, wenn die Flüssigkeit schon mit Wasser nach Vorschrift verdünnt ist. Einwirkungsdauer der Flüssigkeit: im Winter wenigstens 2—3 Monate, im Sommer einen Monat. Weitere Verarbeitung wie bei der Golgi'schen Methode.

6. Man kann an Stelle der teuren Osmiumsäure im Golgischen Bichromatgemisch auch das billigere **Formalin** nehmen. Die Erfolge sind ebensogut oder sogar noch besser, da das Formalin besser in das Gewebe eindringt und auch den Präparaten eine bessere Schnittfähigkeit verleiht. Ausserdem soll nach Kopsch die Imprägnation auch an 24—48 Stunden altem Material gelingen. Nach Durig kommen die ½ cm grossen Stücke in

Formalin 4—6 pCt.	1,0
Kal. bichrom. 3 pCt.	4,0

3 Tage lang, dann auf 2 Tage in die 0,75 proz. Silbernitratlösung. Die Schnitte werden wie bei der Golgi'schen Methode auf dem umgekehrten Deckglase mit Glasleisten auf dem Objektträger befestigt (cf. Retina).

Fixieren der Golgischen Präparate.

Der Umstand, dass die Golgi'schen Präparate kein Deckgläschen vertragen und daher allerlei mechanischen Schädlichkeiten ausgesetzt sind, veranlasste das Bestreben, eine Modifikation des Verfahrens ausfindig zu machen, bei der ein Deckgläschen ohne Gefahr für das Präparat angewendet werden kann. Auch galt es, durch diese Fixierung des Imprägnationsbildes eine Nachfärbung des Präparates mit Carmin, Hämatoxylin u. s. w. zu ermöglichen. Die Methoden, die zu diesem Zwecke vorgeschlagen sind, stimmen darin überein, dass sie es alle auf eine Überführung der so empfindlichen Bichrom-Silberverbindung in eine widerstandsfähigere, vor allem in Wasser unlösliche Silberverbindung oder in deren Reduktion zu reinem Silber abgesehen haben. Ich führe hier nur die verhältnismässig einfache und praktische Methode von Kallius an, die auf einer Reduktion des Silbers beruht:

Die Schnitte kommen aus dem Alkohol in eine Mischung von

Alkohol absol.	10,0
verd. Hydrochinonlösung	20,0

Die Hydrochinonlösung stelle man sich auf folgende Weise her:

Hydrochinon	5,0
Natr. sulfurosum	40,0
Kal. carbonicum	75,0
Aq. dest.	250.0

Von dieser Mischung („fünffacher Hydrochinonentwickler") sind 20 ccm mit 230 ccm dest. Wasser zu verdünnen. (Diese Lösung hält sich gut verschlossen im Dunkeln wochenlang.)

In dieser Alkohol-Hydrochinonlösung bleiben die Schnitte 5 Minuten lang. Sie werden darin dunkelgrau bis schwarz. (Nimmt man zuviel Alkohol, so entsteht ein Niederschlag, der durch weiteren Zusatz von Hydrochinon rasch beseitigt werden kann.)

Ist die Reduktion vollendet, so werden die Schnitte direkt in ein Schälchen mit 70 proz. Alkohol auf 10—15 Minuten übertragen. Hier werden sie heller; dann kommen sie auf fünf Minuten in eine Lösung von unterschwefligsaurem Natron (10,0: 50,0) und zuletzt in eine grosse Schale mit destilliertem Wasser, woselbst sie mindestens 24 Stunden verweilen müssen. So fixierte Präparate können unter Deckglas konserviert werden; auch Färbung mit Alauncarmin und Hämatoxylin gelingt alsdann.

Die Behandlung gestaltet sich also kurz zusammengefasst folgendermassen:

1. Einlegen des Präparates in das Golgi'sche Gemisch:
   1 proz. Osmiumsäure 5,0
   3,5 proz. Kal. bichrom. 20,0 (2—3 Tage)
2. Abspülen mit Arg. nitr. (0,75 pCt. oder schwächer)
3. Einlegen in Arg. nitr. 0,75 pCt. (1—2 Tage)
4. Abspülen in dem schon gebrauchten Golgi'schen Gemisch.
5. Neues Einlegen in schon gebrauchtes oder etwas schwächeres Golgi'sches Gemisch:
   1 pCt. Osmiumsäure 2,0—3,0
   3,5 pCt. Kal. bichrom. 20,0 (1—2 Tage)
6. Abspülen in Arg. nitr. (0,75 proz. oder schwächer).
7. Neues Einlegen in Arg. nitr. 0,75 proz. (1—2 Tage)
8. Härten in Alkohol absol. (¼—½ Stunde.)
9. Schneiden mit dem Rasiermesser oder oberflächliche Celloidineinbettung. Einschluss in Hollundermark. Schnitte 0,05—0,1 mm dick.
10. Auffangen der Schnitte in Alkohol.
11. Zur Fixation kommen die Schnitte in:
    Alkohol absol. 10,0
    verd. Hydrochinonlösung 20,0 (5 Minuten)
12. Alkohol 70 proz. (10—15 Minuten).
13. Unterschwefligsaures Natron (10: 50) (5 Minuten).

14. Auswaschen in dest. Wasser (24 Minuten).
15. Eventuelle Färbung mit Alauncarmin oder Hämatoxylin.
16. Entwässern in Alkohol.
17. Xylol. Kanadabalsam. Deckglas.

Die Golgi'sche Methode ist vorwiegend eine Färbung der wesentlichsten Elemente des Zentralnervensystems. Das zur Färbung der Organe nötige Chromsalz verbindet sich mit dem Silbersalz zu chromsaurem Silberoxyd, und dieses schlägt sich auf eigenartige Weise in oder auf den Ganglienzellen mit ihren Ausläufern, den Achsenzylindern und der Neuroglia nieder. Infolgedessen erscheinen dieselben bei durchfallendem Lichte schwarz. Eine merkwürdige Eigenschaft der Methode ist, dass nicht alle vorhandenen Zellen und Fasern imprägniert werden, sondern stets nur einzelne. Es ist dies ein grosser Vorteil der Methode (den übrigens die Methylenblaumethode auch besitzt), denn wenn alle die zahlreich vorhandenen Zellen und Fasern gefärbt werden würden, wäre das Gewirr so gross und kompliziert, dass das Studium derselben sehr schwer sein würde. Bei dieser Auswahl der Elemente gelingt es aber mit Leichtigkeit, die Fasern bis in ihre Endbäumchen hinein, die Ganglienzellen mit ihren Dendriten und Neuriten zu verfolgen. Ein grosser Nachteil der Methode ist ihre Launenhaftigkeit und der Umstand, dass sich im Präparat oft zahlreiche, sehr störende Niederschläge bilden.

Anwendung der Methode auf die Netzhaut s. Kap. XIII.

VI. Die Ehrlich'sche vitale Methylenblaumethode.

Ehrlich hat in verschiedenen Farbstoffen, welche sämtlich schwefelhaltig sind, ein Färbungsmittel für die lebende Nervensubstanz gefunden; dieselben sind Thionin, Dimethylthionin, Methylenviolett, Methylenazur, besonders aber Methylenblau. Die Anwendung geschah durch Injektion in die Blutbahn. Anfangs wurde das Methylenblau dem lebendem Tiere eingespritzt: dem Frosch durch die Vena cutanea magna oder in den Rückenlymphsack, dem Kaninchen in die Vena cruralis, dem Meerschweinchen in die Aorta. Da die Tiere aber dabei rascher zu Grunde gingen, als eine vollständige Nervenfärbung eingetreten war, so ging man dazu über, den Farbstoff in die Blutgefässe eben getöteter Tiere zu injizieren. Je nach der Grösse des Tieres wurde eine konzentrierte Lösung des Farbstoffes (4 proz. Methylenblaulösung in physiologischer Kochsalzlösung) in das Herz oder eine Arterie (Carotis für das Auge) eingespritzt. Man

verfährt dabei genau ebenso, wie bei einer gewöhnlichen Blutgefässinjektion. Die Injektion wird unterbrochen, sobald der Widerstand in den Gefässen ein bedeutender geworden ist. Manchmal kommt es vor, dass durch hochgradigen Gefässkrampf sehr bald ein starker Widerstand auftritt, bevor noch eine Blaufärbung des Kopfes eingetreten ist. Diesem Übelstand kann man nach Hosch dadurch abhelfen, dass man die Injektionsflüssigkeit vorher im Wasserbade auf Bluttemperatur erwärmt.

Sind alle Organe durchtränkt, so entnimmt man dieselben dem Tiere. Bei einem lebenden Tiere kann man die subkutane Injektion stundenlang immer einige ccm in Pausen von $\frac{1}{4}$—$\frac{1}{2}$ Stunde fortsetzen, bis es stirbt; bei der Injektion in die Blutbahnen stirbt es schneller an Gehirnembolien. Das Methylenblau zersetzt sich im Körper, es entsteht ein Leukoprodukt, die Verbindung wird farblos. Die Organe, die sich anfangs blau färben, blassen dann ab, und wenn man das abgeblasste Gewebe untersucht, so findet man anfangs gar keine Nervenfasern. Diese treten aber hervor, wenn man das Präparat der Luft aussetzt. Man verfolge unter dem Mikroskop die allmählich eintretende und immer stärker werdende Färbung und fixiere das Bild, sobald die maximale Färbung erreicht ist. Lässt man das Präparat (ohne es zu fixieren) noch länger liegen, so blasst es wieder ab. Die entschwundene Färbung kann man übrigens aufs Neue wieder hervorrufen (wenn nämlich das zu untersuchende Gewebe noch lebt) indem man zu dem Präparat einige Tropfen einer $\frac{1}{15}$- bis $\frac{1}{16}$ proz. Methylenblaulösung zufügt (Dogiel). Den richtigen Moment der Fixierung lernt man nach kurzer Übung.

Durch das Methylenblau werden die Ganglienzellen, Sinneszellen, Nervenfibrillen gefärbt. Es ist dieses die eleganteste Methode, um die Achsenzylinder zu demonstrieren. Ein fernerer Vorteil der Färbung liegt in dem Umstand, dass nicht alle Nervenfasern gefärbt werden. Man wird dadurch in den Stand gesetzt, eine Nervenfaser von dem Stämmchen aus bis an ihre terminalen Zweige und manchmal bis an die Terminalzelle zu verfolgen. Solche Präparate sind beweiskräftiger und leichter herzustellen und lehrreicher als Chlorgoldpräparate, an denen der anatomische Zusammenhang durch ein Gewirr von dunkel gefärbten Fasern häufig verdeckt wird (cf. Cornea). Der Hauptvorzug der Methode besteht jedoch darin, dass von allen faserigen Bestandteilen des Gewebes nur die Nervenfasern gefärbt werden. Die sämtlichen Elemente der Stützsubstanz bleiben vollkommen ungefärbt.

Andererseits besitzt die Methode grosse Nachteile. Die Färbung der Nervenendigungen ist häufig eine unvollkommene. Man sieht die zutretenden Nervenfasern, die Endapparate sind aber ungefärbt. Andererseits bekommt man oft vollständige Färbungen des Endapparates, während die motorischen Nervenendigungen ungefärbt bleiben. Die Misserfolge hängen zum Teil davon ab, dass man zu frisch oder zu spät untersucht. Eine genaue Zeitangabe zu machen ist unmöglich. Jedenfalls tut man gut, das injizierte Tier eine Zeit lang liegen zu lassen und erst dann das zu untersuchende Gewebe herauszuschneiden und auf den Objektträger zu bringen (ohne Deckglas, damit die Luft zutreten kann). Bei der Untersuchung der Augen ist man in der angenehmen Lage, zuerst (etwa nach 2 Stunden) den einen Bulbus enukleieren zu können, und wenn man ungenügende Färbung gefunden hat, den anderen erst später. Am raschesten färben sich solche Partien, die mit Blutgefäsen reichlich versehen sind. Die Nerven gefässarmer Gebilde wie die der Cornea und der anangiotischen Netzhäute können seltener und unvollständig zur Anschauung gebraucht werden. Nach Ehrlich ist die Methylenblaureaktion abhängig von der Sauerstoffsättigung und alkalischen Reaktion des Gewebes. Beides ist nötig zum Gelingen der Färbung. (Arnstein.)

Einen grossen Fortschritt machte die Methode, als es Dogiel gelang, überlebende Nervenendapparate **auf dem Objektträger** zu färben. An der Retina von Säugetieren, Vögeln und Fischen gelingt dieses vorzüglich mit verdünnten Lösungen von Methylenblau. Die Färbung ist viel sicherer und vollständiger als auf jede andere Methode. Ebenso gelingt die Färbung der Cornea, der Iris, der Tränendrüse u. s. w., doch färben sich hierbei manchmal auch zellige Gebilde, wodurch ein Vorteil, den die Injektion bietet, verloren geht.

Zum Zweck der Färbung entnehme man das zu untersuchende Gewebe dem eben getöteten Tiere, bringe es auf dem Objektträger in einen Tropfen Humor aqueus oder Glaskörperflüssigkeit und füge nun einige Tropfen einer $^1/_{15}$—$^1/_{16}$ proz. Methylenblaulösung (in einer physiologischen Kochsalzlösung) hinzu. Nach ca. 5—10 Minuten beginnt gewöhnlich die Tinktion der Nervenelemente, ein Zeichen, dass nicht die lebende Substanz der Nerven sich färbt, sondern dass es sich um eine Färbung der Organe im Momente ihres Absterbens handelt. Die anfänglich recht schwache Färbung verstärkt sich allmählich, bis nach Verlauf einer gewissen Zeit die

Tinktion fast aller Nervenelemente eingetreten ist. Man verfolge die zunehmende Färbung unter dem Mikroskop! Die Schnelligkeit, mit der die Färbung bis zu ihrem Maximum zunimmt, hängt nach Dogiel von der Dicke des Gewebes und von der Art der Verteilung der Nervenelemente in demselben ab, ob sie nämlich in einer oder mehreren Schichten liegen. In der Netzhaut sind zur Tinktion der Nerven der verschiedenen Schichten dieser Haut 1—3 Stunden, oftmals noch mehr Zeit nötig. Die Enden der motorischen Nerven färben sich schon nach 5—10 Minuten. Auch der Umstand, ob das Gewebe einem kalt- oder warmblütigen Tiere entnommen wurde, ist von Bedeutung: bei ersterem färben sich die Nerven langsamer als bei letzterem.

Die Färbung wird im Sommer bei Zimmertemparatur ausgeführt, im Winter aber ist es bequemer, die Färbung in einem Thermostaten bei 30—35° C. vorzunehmen. Die Färbung gelingt aber auch gut bei gewöhnlicher Zimmertemperatur von 16—18° R.; nur ist längere Zeit dazu erforderlich. Um das Austrocknen des Präparates zu verhüten, setze man demselben von Zeit zu Zeit etwas verdünnte Methylenblaulösung hinzu.

Spezielle Vorschriften über Färbung der Cornea, Retina u. s. w. siehe im „Speziellen Teil".

Fixieren der Methylenblaupräparate.

Die so behandelten und gefärbten Methylenblaupräparate halten sich nur kurze Zeit, sie fangen oft schon nach 5—10 Minuten an, abzublassen. Man suchte deshalb die Farbe zu fixieren.

Dogiel benutzte dazu das pikrinsaure Ammonium, doch härtet dieses nicht genügend. Bessere Dienste leistet das von Bethe empfohlene molybdänsaure Ammoniak. Die Bethesche Fixation gestattet auch eine Nachfärbung der Objekte mit den meisten Tinktionsmitteln, ebenso eine Nachbehandlung mit Arg. nitr., und schliesslich ist auch eine Einbettung in Paraffin oder Celloidin möglich. Die Stücke können dann mit dem Mikrotom geschnitten werden, in Nelkenöl oder Xylol aufgehellt und in Kanadabalsam aufbewahrt werden. Die Färbung bleibt bis in die feinsten Details erhalten und zeichnet sich durch ein tiefes Dunkelblau aus.

Für Wirbeltiere empfiehlt sich folgendes Gemisch:

Ammoniummolybdat	1,0 g
Aq. dest.	10 ccm
Wasserstoffsuperoxyd	1 ccm
Acid. hydrochlor. offic.	1 Tropfen.

Bei Zusatz des Wasserstoffsuperoxyds färbt sich die Flüssigkeit gelb, bei Zusatz der Salzsäure fällt ein weisser Niederschlag aus (Molybdänsäure), der sich beim Schütteln löst. Die Lösung hält sich nicht länger als 8 Tage.

Die zu fixierenden Präparate werden mit physiologischer Kochsalzlösung abgespült und kommen in die auf + 2° bis — 2° abgekühlte Fixierungsflüssigkeit je nach der Grösse 2—5 Stunden. Man stellt dazu vorher die Schale mit dem Fixiergemisch in ein Gefäss mit Eis und Salz oder Schnee und Salz und lässt die Flüssigkeit soweit abkühlen. Nach vollendeter Fixation tut man gut, das Präparat noch einige Zeit bei Zimmertemperatur im Gemisch zu lassen. Darauf wäscht man ½—2 Stunden mit destilliertem Wasser aus und entwässert möglichst rasch mit kaltem Alkohol. Die Entziehung des Alkohols geschieht mit Xylol. Es ist darauf zu achten, dass aller Alkohol entfernt wird, besonders wenn in Paraffin eingebettet werden soll, da das Salz in warmem Alkohol löslich ist. Die Einbettung in Paraffin oder Celloidin geschieht wie sonst.

Bei der Behandlung der Präparate sind starke Mineralsäuren, Alkalien und Seifen auszuschliessen, daher ist die Nachfärbung mit Boraxkarmin oder Ammoniakkarmin nicht möglich. Die Nachfärbung geschieht mit Alaunkarmin oder Alaunkochenille. Ausserdem sind alle Anilinfarben zulässig. Hämatoxylin gibt wegen der blauen Farbe mangelhafte Resultate. S. Meyer empfiehlt Bismarckbraun und Eosin.

Anm. 1. Setzt man der Fixierungsflüssigkeit, in der das Präparat schon einige Zeit gelegen hat, Osmiumsäure zu, so wird die entstehende Methylenblauverbindung alkoholbeständiger und dunkler blau. Auch Nachbehandlung der Schnitte mit Osmiumsäure ist möglich. Fettreiche Gewebe sind von einer derartigen Behandlung ausgeschlossen.

Anm. 2. Um die Eiskühlung zu ersparen, hat Bethe noch eine Kombination der Fixierung mit pikrinsaurem Ammoniak und molybdänsaurem Ammoniak angegeben:

1. Vorfixieren der möglichst kleinen Stücke in konzentr. wässeriger Lösung von pikrinsaurem Ammoniak bis zum Auftreten violetter Färbung (10 —15Minuten).
2. Durchfixieren in einer Lösung von
   a) Ammoniummolybdat 1,0
      Aq. dest. 20,0
      Salzsäure (offizin.) 1 gtt. oder
   b) Ammoniummolybdat 1,0
      Aq. dest. 10,0
      2 proz. Chromsäurelösung 10,0
      Salzsäure 1 gtt. oder

c) Ammoniummolybdat 1,0
Aq. dest. 10,0
½ proz. Osmiumsäure 10,0
Salzsäure 1 gtt.

Bei Rezept a und b genügen zur Fixation ¾—1 Stunde, bei Rezept c ist es vorteilhaft, 4—12 Stunden zu fixieren, um gute Osmiumbräunung zu erhalten. An Stelle des Ammoniummolybdats kann auch phosphormolybdänsaures Natron genommen werden.

3. Auswaschen in Wasser, Entwässern in Alkohol, Xylol, Balsam oder Paraffineinbettung. Eventuell Nachfärben mit Alaunkarmin oder neutralen Anilinfarben.

Ramon y Cajal empfiehlt nach der Fixierung in Bethes Flüssigkeit: Auswaschen in Wasser, Übertragen in eine Lösung von:

Formol	40,0
Wasser	60,0
1 pCt. Platinchlorür	5,0

Dann Auswaschen, Übertragen in ⅓ proz. alkoholische Lösung von Platinchlorür (einige Minuten), Einschluss in Paraffin. Auch dem Alkohol, in den die Schnitte nach dem Schneiden kommen, wird ⅓ pCt. Platinchlorür zugesetzt.

Bei dieser Behandlung werden die Präparate nicht nur gehärtet, sondern das Platinsalz erhöht auch die Unlöslichkeit der Verbindung des Molybdän mit dem Methylenblau.

Literatur.

Abelsdorff, Arch. f. Augenheilk. Bd. 42. 1901. — Apathy, Mitteil. d. Zool. Stat. Neapel. Bd. 12. 1897. — Arnstein, Anat. Anz. II. Jahrg. 1887. — Bach, Arch. f. Ophth. Bd. 41. III. — Bartels, Arch. f. Augenheilk. Bd. 59. 1908. — Benda, Verhandl. d. phys. Ges. Berlin. 1900. — Verhandl. d. anat. Ges. Bonn 1901. — Bethe, Arch. f. mikr. Anat. 1898. — Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 17. 1900. — Arch. f. mikr. Anat. Bd. 55. 1900. — Arch. f. mikr. Anat. Bd. 44. 1895. — Biolog. Centralbl. Bd. 15. 1895. — Anat. Anz. Bd. 12. 1896. — Allg. Anat. u. Phys. d. Nervensystems. Leipzig 1903. — Bethe u. Mönckeberg, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 54. 1899. — Bielschowsky, Neurol. Centralblatt. Bd. 21. 1902. — Bd. 22. 1903. — Bielschowsky u. Pollack, Neurol. Centralbl. 1904. No. 9. — Birch-Hirschfeld, Arch. f. Ophth. Bd. 50. I. — Bd. 53. 1902. — Ramony Cajal, Les nouvelles idées sur la strurture du système nerveux chez l'homme et chez les vertébrés. Paris 1894. — Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1903. — Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Phys. Bd. 21. — Centralbl. f. allgem. Path. 1904. — Rev. trim. micr. 1896. Vol. 1. — Cox, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 37. 1891. — Dogiel, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 35, 37, 38, 41, 42, 44, 56, 59. — Encycl. d. mikr. Techn. Art: „Methylenblau zur Nervenfärbung." — Zeitschr. f.

wiss. Mikr. Bd. 8. 1891. — Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 56. 1899. — Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Phys. Bd. 9. 1892. — Bd. 14. 1897. — Durig, Anat. Anz. Bd. 10. 1895. — Embden, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 57. — Ehrlich, Sauerstoffbed. d. Organism. Berlin 1885. — Biolog. Centralbl. Bd. 6. 1886. — Deutsche med. Wochenschr. 1886. No. 4. — Golgi, Unters. über d. feineren Bau d. zentr. u. periph. Nervensyst. Jena 1894. — Held, Arch. f. Anat. u. Phys. Anat. Abt. 1895, 1897. — Homburger, Centralbl. f. allgem. Path. u. path. Anat. Bd. XVI. 1905. — Hoppe, Neurol. Centralbl. Bd. 25. 1906. — Hosch, Arch. f. Ophth. Bd. 37. III. 1891. — Kallius, Merkel-Bonnets Anat. Hefte. Bd. II. 1892. — Kulschitzky, Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 4. 1887. — Lenhossék, Feinerer Bau des Nervensystems im Lichte neuester Forschungen. II. Aufl. 1895. — Neurol. Centralbl. Bd. 17. 1898. — Mallory, Journ. exp. Med. 1897. Vol. 2. — Marchi, Rev. sperim. d. freniatr. e di Med. leg. 1887. — P. Meyer, Neurol. Centralbl. Bd. 28. 1909. — S. Meyer, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 46. 1895. — Nissl, Centralbl. f. Nervenheilk. Psych. Bd. 17. 1894. — Neurol. Centralbl. Bd. 13. 1894. — Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 12. 1895. — Bd. 13. 1896. — Encycl. d. mikr. Techn. Art.: Nervenzellen. — Pal, Wiener med. Jahrb. 1886. — 1887. — Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 4. 1887. — Bd. 5. 1888. — Rosin, Deutsche med. Wochenschr. 1898. S. 615. — Rebizzi, Riv. Patol. nerv. e ment. Vol. X. 1905. — Schaudigel, Arch. f. Ophth. Bd. 59. 1904. — Schreiber, Arch. f. Ophth. Bd. 64. 1905. — Weigert, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1882. — Fortschr. d. Med. 1884. 1885. 1887. — Beitr. z. Kenntn. d. norm. menschl. Neuroglia. Festschr. z. 50 jähr. Jubil. d. ärztl. Verein. z. Frankfurt a. M. 1895. — Encycl. d. mikr. Techn. Art.: Neurogliafärbung. — Wolters, Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 7. 1890.

Zehntes Kapitel.

Methoden zur Darstellung besonderer Zell- und Gewebsbestandteile.

I. Kernteilungsfiguren.

Zur Darstellung derselben müssen die Objekte möglichst frisch sein. Kleine Stücke (nicht dicker als 4 mm), kommen in eine reichliche Menge der Fixierungsflüssigkeit. Als solche sind Müllersche Flüssigkeit, Alkohol, auch Formol zu vermeiden. Dagegen ist zu empfehlen

1. **das Flemming'sche Gemisch** (S. 37)

mit nachfolgender Safraninfärbung (S. 88) der möglichst feinen Paraffinschnitte. Dis ruhenden Kerne erscheinen nur ganz blass, die sich teilenden dagegen sehr intensiv gefärbt. Man kann ebenfalls färben mit 2 proz. Gentianaviolettlösung (S. 89), mit der Gram'schen Methode und mit Karbolfuchsin (Kap. XX).

2. **Sublimat.** (S. 30.)

Als Färbung empfiehlt sich die Methode von Biondi-Heidenhain (S. 93). (Die ruhenden Kerne werden blaugrau, die sich teilenden intensiv grün gefärbt), ferner die Heidenhain'sche Eisenalaun-Hämatoxylinfärbung (S. 85), die Bendasche Eisenhämatoxylinmethode (S. 85) und die Gram'sche Methode.

3. **Chromameisensäure** (Rabl).

Zu 200 ccm einer 0.3 proz. Chromsäurelösung werden 4—5 Tropfen konz. Ameisensäure gebracht. Dauer der Einwirkung 12—24 Stunden. Gründliches Auswaschen. Allmähliches Härten. Eignet sich besonders für Embryonen.

II. Protoplasmastrukturen.

1. Darstellung der Zellgranula (Altmann).

1. Fixierung der möglichst rasch nach dem Tode entnommenen, dünnen Organstückchen in einer Mischung von:

5 pCt. Kal. bichrom.
2 pCt. Überosmiumsäure aa

2. Auswaschen in Wasser und Härten in Alkohol von steigender Konzentration.

3. Einbetten in Paraffin. Schneiden (3—5 μ). Aufkleben. Entparaffinieren.

4. Färben in einer Lösung von

Anilinwasser (kalt gesättigte und filtrierte Lösung von Anilin in Aq. dest.) 100,0
Säurefuchsin 20,0

unter Erwärmen, bis Dämpfe aufsteigen.

5. Abkühlen lassen und Abspülen des Farbstoffes mit einer Mischung von

konzentr. alkohol. Pikrinsäurelösung 1,0
Wasser 2,0

6. Erneuerung der Pikrinmischung und vorsichtiges Erwärmen derselben auf etwa 42° auf dem Paraffinofen (30—60 Sekunden).

7. Abspülen mit absol. Alkohol. — Xylol-Balsam.

Die im leicht gelb gefärbten Zellleib liegenden Granula sind tief rot gefärbt (bezw. durch Osmium geschwärzt); die Kerne sind farblos, aber deutlich zu erkennen.

2. Modifikation von Schridde.

Dieselbe umgeht die direkte OsO_4-Fixierung und erlaubt somit das Einlegen grösserer Stücke (bis etwa 1 cm Seitenlänge).

1. Fixierung der lebendfrischen Präparate in Formol-Müller (1:9), das auf 35° erwärmt ist, (24 Stunden).
2. Reine Müller'sche Flüssigkeit (1—2 Tage).
3. Fliessendes Wasser (12—24 Stunden).
4. Zerschneiden der Objekte in ca. 2 mm dicke Scheiben,
5. Dest. Wasser (6 Stunden).
6. 1 proz. Osmiumsäurelösung bei Lichtabschluss (24 Stunden).
7. Fliessendes Wasser (12 Stunden).
8. Nachhärten in steigendem Alkohol (50—100 proz.). Alkohol-Chloroform. Chloroform. Paraffineinbettung (Schmelzpunkt 58°). Anfertigung sehr dünner Schnitte (1—2 μ). Aufkleben mit der Japanischen Methode. Entparaffinieren. Alkohol 85 proz.
9. Färben mit der Altmann'schen Anilinwassersäurefuchsinlösung (S. 128).
10. Differenzieren in einer Mischung von

konz. alkohol. Pikrinsäurelösung	1 Teil
20 proz. Alkohol	7 Teile.

Man giesst von dieser Mischung etwas auf den Schnitt, wiegt den Objektträger hin und her und wiederholt die Differenzierung mit Pikrinalkohol, bis der Schnitt einen hellgelblichroten Farbenton angenommen hat.

11. Balsam.

3. Russell'sche Fuchsinkörper.
(Fuchsinophile Granulationen.)

1. Färbung von Müllermaterial in einer gesättigten Lösung von Fuchsin in 2 proz. Karbolwasser (10—30 Minuten).
2. Auswaschen in Wasser (3—5 Minuten).
3. Alkohol absol. (½ Minute).
4. Färben in 1 proz. Lösung von Jodgrün in 2 proz. Karbolwasser (5 Minuten).
5. Alkohol absol., Xylol, Balsam. Kerne grün, Zelleinschlüsse rot.

4. Darstellung des Granoplasma. (Unna.)

Im Gegensatz zu den geformten Körnungen des Protoplasmas, schliesst jedes Protoplasma eine einheitliche amorph. körnige Substanz ein, die Granoplasma genannt wird.

Methode von Unna-Pappenheim.

1. Entfernung des Celloidins in Alkohol-Äther $\overline{aa}$.

2. 80 proz. Alkohol. Wasser.

3. Farblösung (von Grübler als Karbol-Methylgrün-Pyroninmischung fertig zu beziehen).

Methylgrün	0,15
Pyronin	0,25
Alkohol	2,5
Glyzerin	20,0
½ proz. Karbolwasser ad	100,0

Hiermit ist der Boden eines Reagenzglases zu bedecken, und der Schnitt 5—10 Minuten in einem Wasserbade von durchschnittlich 30—40° C., am besten 37° C. zu belassen.

4. Schnelles Abkühlen des Schnittes durch Eintauchen des Reagenzglases in kaltes Wasser. Herausnehmen des Schnittes mit einer Platinnadel.

5. Abspülen in Wasser.

6. Alkoh. absol. Bergamottöl. Balsam. Kerne blau, Protoplasma rot, Mastzellen gelborange. Kokken rot.

5. Protoplasmafärbung nach Held.

Fixation in Zenker'scher (oder bei Embryonen Rabl-scher) Mischung. Die Schnitte werden 3—4 Stunden gebeizt in Eisenalaun (2.5 proz. Lösung) (oder Liq. Alum. acet. oder Alsol od. Liq. Alsoli) und dann gefärbt mit einer Molybdän-Hämatoxylintinktur.

Zur Herstellung derselben bringt man ein Quantum reiner Molybdänsäure als einen öfter umzuschüttelnden Bodensatz in eine 1 proz. Lösung von Hämatoxylin in 70 proz. Alkohol. Nach 14 Tagen beginnt eine Umwandlung der Tinktur, die sich als eine tiefe und blauschwarze Farbänderung anzeigt. Mit der Zeit nimmt die Kraft dieser Tinktur an Intensität zu.

Unmittelbar vor dem Gebrauch werden je nach Bedarf einige Tropfen der Tinktur in Aq. dest. aufgelöst und heiss bei ca. 50° C. (24—48 Stunden) oder längere Zeit kalt gefärbt.

Auswaschen der Schnitte in gewöhnlichem Wasser, wenige Minuten.

Differenzierung mit 5 proz. wässeriger Eisenalaunlösung oder mit der Weigert'schen Ferrizyankali-Boraxlösung (S. 100). Bei Anwendung der letzteren genügt häufig ein momentanes Ein-

tauchen des Objektträgers (Schnitte 8—10 μ) in die Differenzierungsflüssigkeit, dem ein sofortiges gründliches Abspülen in gewöhnlichem Leitungswasser zu folgen hat. Zuweilen ist ein mehrmaliges Eintauchen erforderlich. Es empfiehlt sich aber, nach jedem Eintauchen rasch in Wasser abzuspülen und sich von dem Differenzierungsgrade zu überzeugen. Bei stark gefärbten Celloidinschnitten ist meist eine etwas längere Differenzierung erforderlich. Die Differenzierung ist gewöhnlich richtig, wenn die nicht aufgehellten Paraffinschnitte noch einen graublauen Farbenton aufweisen und das kollagene Hornhautgewebe somit nicht vollständig entfärbt ist.

Der Hauptvorteil dieser Methode besteht darin, dass dieselbe auch bei vorgeschrittener Entfärbung das Protoplasma der Zellen nicht zur totalen Entfärbung bringt, auch wenn schon mannigfaltige Bildungsprodukte der Zellen herausdifferenziert sind. Von diesen Zellprodukten wird je nach der Fixierung eine sehr verschiedene Reihe dargestellt. Die Methode eignet sich nicht nur zur Darstellung der Diplosomen der Zellen, der Zentralgeissel an dem Corneaendothel u. s. w., sondern auch zur Darstellung der Grenzhäute der Neuroglia, der protoplasmatischen Anteile der marginalen Glia und der Weigert'schen Gliafasern. Im Bereiche des Bindegewebes anderseits werden die elastischen Fasernetze und die protoplasmatischen Anteile der Bindegewebszellen lange gefärbt erhalten.

Diese vorzügliche Methode ist für das Studium der Histologie des Auges geradezu unentbehrlich. Sie hat allerdings den Nachteil, dass sie nicht mit absoluter Sicherheit arbeitet und manchmal versagt. (Seefelder.)

III. Darstellung der Zellgrenzen von Epithelien

durch Versilberung: Frisches Gewebe (Konjunktivalstückchen) kommt für 10 Minuten in ¼ proz. Arg. nitr. bei Sonnenlicht und dann für ¼ Stunde in Aq. dest. mit Zusatz von einigen Tropfen Essigsäure, ebenfalls im direkten Sonnenlicht. Auswaschen in Wasser.

IV. Bindegewebsfasern.

werden schon durch Eosin oder Ammoniakkarmin gefärbt. Sehr schöne Resultate gibt auch die Färbung nach van Gieson und die Mallory'sche Neurogliafärbung. Zur Darstellung

der feinsten Fibrillen eignet sich folgende Methode (besonders wichtig zur Unterscheidung von Sarkomen und Karzinomen).

1. Mallory's Bindegewebsfärbung.

1. Härten in Sublimat oder Zenker'scher Lösung.
2. Vorfärben in 0,1 proz. wässeriger Säurefuchsinlösung (5 bis 10 Minuten).
3. Auswaschen in Wasser.
4. 1 proz. Lösung von Phosphormolybdänsäure (2 Minuten).
5. Auswaschen in zweimal gewechseltem Wasser.
6. Färben in folgendem Gemisch (20 Minuten).:

Wasserlösliches Anilinblau (Grübler)	0,5 g
Orange G.	2,0 g
Oxalsäure	2,0 g
Aq. dest.	100 ccm

7. Auswaschen.
8. 95 proz. Alkohol, Trocknen mit Fliesspapier, Origanumöl, Xylol, Balsam.

Kollagene Fasern und Retikulum tiefblau, Kerne, Protoplasma, Achsenzylinder, Neuroglia, Fibrin rot, Blut, Markscheiden gelb.

A. Collagen.

Zur Differentialdiagnose zwischen Collagen und Protoplasma dienen noch folgende Methoden:

I. Acidophiles Collagen.

1. Kern-Collagenmethoden.

a) Unnas pol. Methylenblau-Säurefuchsin- und Tannin-Methode: Polychrome Methylenblaulösung (Grübler) 2—5 Minuten, je länger, je dünner der Schnitt. Wasser, gut abspülen. (½ pCt.) Säurefuchsin und (33 pCt.) Tanninmischung (Grübler) 10—15 Minuten. Lange Abspülung in dest. Wasser oder kurze in Leitungswasser. Alkohol absol., Öl, Balsam. — Als Fixationsmittel für diese Färbung dienen die Chromsalze, Müller'sche Lösung, Alkohol, Sublimat, Pikrinsäure, nicht brauchbar sind die Gemische von Hermann und Erlicki oder Formol und Kupfersalze. Mit dieser Methode werden alle oxyphilen Substanzen: Collagen, Protoplasma, Muskeln säurefuchsinrot gefärbt, während die basophilen Substanzen: das Chromatin der Kerne, das Keratin, gewisse Formen des Hyalins etc. die Methylenblaufärbung annehmen.

b) Safranin-Wasserblau + Tanninmethode: 1 proz. wässerige Safraninlösung 10 Minuten. Wasser, gut abspülen. (1 pCt.) Wasserblau und (33 pCt.) Tanninmischung (möglichst frisch bereitet) 10—15 Minuten. In dest. Wasser lange (oder in Leitungswasser kurz) abspülen. Alkohol absol., Öl, Balsam. Diese Methode ist ein Pendant der vorigen.

2. Protoplasma-Collagenmethoden.

a) Säurefuchsin-Pikrinmethode (modifizierte van Gieson-Methode). Säurefuchsin 0,25, Pikrinsäure 1,5, Salpetersäure 1,5, Glyzerin 10,0, Aq. dest. ad 100,0. Man löst das Säurefuchsin und die Pikrinsänre in der Mischung von Wasser und Glyzerin unter Kochen und setzt zuletzt die Salpetersäure zu. Färbung 5—10 Minuten. Alkohol absol., Öl, Balsam. — Scharfe Rotfärbung des Collagens, Gelb- oder Orangefärbung des Protoplasmas, der Muskeln und des Elastins. Vorherige Hämatoxylin-Kernfärbung ist möglich.

b) Unnas neutr. Orcein-polychr. Methylenblau-Glyzerinäthermethode: Fixation in Alkohol absol. Färbung in 1 proz. spirit. Orceinlösung (ohne Säurezusatz) 15 Minuten. In Alkohol absol. oder 80 proz. gut abspülen. In Wasser gut abspülen. Pol. Methylenblaufärbung (Grübler) 2—5 Minuten. In Wasser kurz abspülen. Glyzerinäthermischung 1: 3 Aq. 1—2 Minuten. Wasser gut abspülen. Alkohol absol., Öl, Balsam. — Dient zur Erkennung feinster Protoplasmaausläufer zwischen Collagenmassen.

II. Basophiles Collagen

zeigt grössere Affinität zu basischen als zu sauren Farbstoffen. Zum Nachweis dienen die beiden unter I. angegebenen Methoden der pol. Methylenblau-Säurefuchsin + Tanninfärbung und der Safranin-Wasserblau + Tanninfärbung. Fixation in absol. Alkohol ist absolut notwendig.

Unnas Karbolfuchsin-Tannin-Wasserblaumethode: Färbung 5 Minuten in Karbolfuchsin. Auswaschen in Wasser. ½ Minute in konzentr. wässeriger Tanninlösung. Auswaschen in Wasser. Färbung 1 Minute in 1 proz. wässeriger Wasserblaulösung. 10 Sekunden in salzs. Alkohol. Alkohol, Xylol, Balsam. — Basophiles Collagen rot, normales Collagen blau.

B. Collastin

verhält sich tinktoriell wie Elastin, gleicht aber strukturell dem collagenen Gewebe. Daher können die Methoden der Elastindarstellung (Orceinmethode) auch zugleich zum Nachweis des Collastins dienen. Zur genaueren Untersuchung des Collastins empfiehlt Unna die Kombination einer starken Vorfärbung des Elastins mittelst angesäuerter Orceinlösung mit einer Nachfärbung mittelst der Säurefuchsin-Pikrinmethode für Collagen oder folgende einzeitige Doppelfärbungen (Elastin-Collagenmethoden):

a) Säurefuchsin-Orceinmethode: Orcein (Grübler) 1,0, Säurefuchsin 0,1, Salzsäure 2,0, Alkohol. absol. 60,0, Glyzerin 10,0, Wasser ad 100,0. Färbung 2—4 Stunden. Alkohol absol., Öl, Balsam. Man erhält ausser einer schön braunen Elastinfärbung und einer dunkelroten Collagenfärbung die anderen oxyphilen Substanzen (Muskeln, Protoplasma) in verschiedenem Grade säurefuchsinrot mitgefärbt, ebenso aber auch Kerne und das Granoplasma (schwach gefärbt).

b) Unnas Wasserblau-Orceinmethode: Orcein (Grübler) 1,0, Wasserblau 0,25, Alkohol absol. 60,0, Glyzerin 10,0, Wasser ad 100,0. Färbung über Nacht. Vorzügliche Kontrastfärbung

aller Bindesubstanzen und Epithelien in fein abgestuften Nuancen, in der Weise, dass das Collagen das Wasserblau, das Elastin das Orcein, die Muskeln und das Protoplasma Mischungen beider Farben bevorzugen.

c) Spezielle Methode Unnas für Collastin: Färbung einige Stunden in saurem Orcein. Auswaschen in Alkohol, dann in Wasser. Färbung einige Minuten in 1 proz. wässeriger Säurefuchsinlösung. Auswaschen in angesäuertem Wasser. ½ Minute in konzentr. wässeriger Pikrinsäurelösung. 1 Minute in konzentr. alkohol. Pikrinsäurelösung. Alkohol. Xylol. Balsam. — Collastin braun, Collagen rot, Protoplasma gelb.

C. Collacin (basophiles Collastin)

weist einen strukturellen Zusammenhang mit präexistenten Collagenfasern, tinktoriell aber die Basophilie des Elacins auf. Zum Nachweis dienen dieselben Methoden wie zum Nachweise des Elacins, vor allem die unter Collagen beschriebenen pol. Methylenblau-Säurefuchsin + Tanninmethode und die Safranin-Wasserblau- + Tanninmethode. Ferner Kombination einer dieser Methoden mit einer vorhergehenden Orceinfärbung auf Elastin.

V. Elastische Fasern.

1. Unna-Taenzer'sche Orceinfärbung.

1. Fixieren des frischen Materiales in Alkohol, Formalin oder Sublimat (weniger gut ist Müller'sche Flüssigkeit). (Bei Leichenaugen, die nicht mehr recht frisch zur Fixierung kamen, ist die Differenzierung des elastischen Gewebes gegen die übrigen Gewebsbestandteile mitunter ganz ungenügend, indem letztere leicht einen dunklen Farbenton annehmen und beim Ausspülen kaum wieder verlieren. (Stutzer)).

2. Färben in:

Orceïn	1,0
Acid. hydrochlor.	1,0
Alkohol absol.	100,0

Die Schnitte werden mit nur wenig Farblösung in einem Schälchen begossen und letzteres an einen warmen Ort gestellt (bis 30° C.), bis die Lösung eingedickt, schwer beweglich geworden ist (10—15 Minuten), oder man lässt stehen, dass die Lösung langsam verdunsten kann.

3. Abspülen in verdünntem Alkohol.

4. Entfärben in:

Acid. hydrochlor.	0,5
Alkohol (95 proz.)	100,0
Aq. dest.	25,0

5. Abspülen in Wasser.

6. Entwässern in Alkohol, Öl, Balsam.

Die elastischen Fasern werden braunrot gefärbt, ebenso Hornsubstanz, alles übrige schwach tingiert. Vorfärbung der Kerne mit Borax- oder Lithionkarmin oder Nachfärbung mit Anilinblau, polychromem Methylenblau oder Thiomin.

Wenn das Celloidin in den gefärbten Präparaten zu dunkel bleibt, so überträgt man die Schnitte aus dem Salzsäurespiritus in Wasser, dem etwas Liq. Ammonii caustici zugesetzt ist. Dann Zurückbringen in den Salzsäurespiritus.

Sehr empfehlenswert ist die Modifikation nach Benda: Zu einer Schale mit etwa 10 ccm Salzsäure-Alkohol (1 ccm konzentr. HCl + 100 ccm 70 proz. Alkohol) werden aus einer vorrätigen gesättigten 90 proz. alkohol. Orceinlösung ungefähr 2 Tropfen zugesetzt, damit das Färbebad eine schwache Himbeerfärbung annimmt; die Schnitte verbleiben darin 2—3 Tage, manchmal auch noch länger; jeden Tag werden sie einmal unter dem Mikroskop kontrolliert, ob die Elastika sich genügend gefärbt hat. Ist dies der Fall, so hat man eine schöne Färbung aller bis zu den feinsten elastischen Fasern erreicht, indem der Grund fast oder ganz farblos geblieben ist. Somit ist eine Differenzierung in Salzsäure-Alkohol nicht mehr nötig. (Savini.)

Vierfachfärbung nach E. Fränkel

dient dazu, um neben den elastischen Fasern fast alle sonstigen Gewebsbestandteile darzustellen.

1. Vorfärben in Lithionkarmin; Differenzieren in Salzsäure-Spiritus, kurz, weil die darauf folgende

2. Saure Orceinlösung weiter differenziert:

Orcein (Grübler)	0,5
Alkohol absol.	40,0
Acid. nitr. gtt.	40
Aq. dest.	20,0.

Von dieser Stammlösung etwas abgiessen und mit 3 proz. Salpetersäure-Spiritus so lange verdünnen, bis die gewünschte Farbennuance, in der man die elastischen Fasern gefärbt haben will, entsteht. Man färbt 12—24 Stunden.

3. Differenzieren in 80 proz. Spiritus; bei Überfärbung in Salpetersäure-Spiritus (nicht zu lange), dann 80 proz. Spiritus.

4. Nachfärbung (5—10 Minuten) in Indigokarmin 0,5, konzentr. wässerige Pikrinsäurelösung 200,0.

5. Kurzes Durchziehen durch

Eisessig	3,5
Aq. dest.	100,0

6. Abspülen in Wasser, 96 proz. Alkohol, Bergamottöl, Balsam.

Kerne rot, Elastin braunschwarz, Collagen grün, Muskulatur gelb.

2. Weigert'sche Elastinmethode.

Dieselbe ist weit sicherer und einfacherer als die Orceinmethode. Die elastischen Fasern der Augenhäute werden viel gleichmässiger

gefärbt. Sie verdient wirklich den Namen einer elektiven Färbung.

1. Fixierung in Sublimat. Auch Formol, Flemming-sche Lösung ist möglich.

2. Paraffineinbettung.

3. Färbung in Resorcin-Fuchsin-Solution nach Weigert (Grübler), 15—30 Minuten.

Die Farblösung wird auf folgende Weise hergestellt. Man bringt

1 pCt. wässerige Fuchsinlösung 100,0
2 pCt. „ Resorcinlösung 100,0

in einer Porzellanschale zum Kochen, und setzt dann 25 ccm Liqu. ferri sesquichlorati Ph. G. III. hinzu und lässt unter Umrühren noch weitere 2—5 Minuten kochen. Dabei bildet sich ein schlammiger Niederschlag. Man lässt die so erhaltene Masse abkühlen und filtriert. Das Filtrat giesst man fort, den Niederschlag aber sammelt man auf dem Filter und lässt das Wasser abtropfen. Dann nimmt man den Filter mit dem Niederschlag vom Trichter ab und tut beides in die Schale, in der man das Resorcin-Fuchsin-Eisenchloridgemisch gekocht hat, weil sich in derselben noch etwas Niederschlag befindet, den man mit verwenden kann. Man kocht nun den Niederschlag in der Schale unter stetem Umrühren und unter allmählichem Herausfischen des vom Niederschlag befreiten Filtrierpapiers mit 200 ccm Alkohol 94 pCt. Dann lässt man erkalten, filtriert und füllt das Filtrat mit Alkohol wieder auf 200 ccm auf. Nach Zusatz von 4 ccm Salzsäure ist die Farblösung fertig.

Man kann die Schärfe der Bilder noch verbessern, wenn man auf 200 ccm der fertigen alkoholischen Lösung noch 20—30 ccm Aceton hinzusetzt. (Wolfrum.)

4. Abwaschen in Alkohol, Aufhellen in Xylol (nicht Nelkenöl oder Karbolxylol), Balsam.

Über die Anwendung dieser Methode auf die Hornhaut siehe Kap. XI.

Die elastischen Fasern erscheinen fast schwarz auf leicht violett gefärbtem Grunde. Ist der Untergrund nicht hell genug, so kann man noch eine Differenzierung in Salzsäurealkohol vornehmen. Die Kerne sind bei kurzer Färbung nicht mit tingiert, man kann sie aber durch Lithion-Karmin nach der Elastikafärbung oder noch besser vor derselben sehr gut sichtbar machen. Konstrastreiche Protoplasmafärbungen erzielt man durch Nachfärbung mit Pikrinsäure, Orange oder mit van Gieson. Desgleichen ist eine Kombination mit der Fibrinmethode und mit der Gram'schen Bakterienfärbung möglich.

Anstelle des Fuchsins kann man auch andere Anilinfarbstoffe (Vesuvin, Safranin, Thionin etc.) nehmen. Man bezeichnet diese Lösungen nach Fischer kurz durch Einfügen der Silbe „el" in den Namen des Farbstoffes, also Fuchselin, Vesuvelin, Safranelin, Thionelin, Gentianavioletteline etc.

Modifikation nach Pranter.

I. Resorzinfuchsin (Grübler) 0,02 g
officin. Salpetersäure 1 ccm
70 proz. Alkohol 100 ccm

Färbedauer 8—24 Stunden.

II. Lösung für Schnellfärbung.

Resorzinfuchsin 0,20 g
Salpetersäure 3,00 ccm
70 proz. Alkohol 100,00 ccm

Färbedauer ¼—1 Stunde.

Modifikation nach Röthig.

Färbung mit dem Spiegelschen Kresofuchsin, das das färbende Prinzip der Weigertschen Methode darstellt.

Kresofuchsin 0,5 g
Alkohol 95 pCt. 100 ccm
Salzsäure 3 ccm

dient als Stammlösung zur Herstellung einer Farbflüssigkeit:

Stammlösung 40 ccm
Alkohol 95 pCt. 24 ccm
wässerige Pikrinsäurelösung 1:3 2 ccm

Dauer der Färbung 2—24 Stunden. Zur Gegenfärbung empfiehlt sich das Orange G, und in diesem letzten Falle werden die Kerne braun und die elastischen Fasern blau gefärbt.

Elacin (basophiles Elastin)

zeigt zwar strukturell die Form normaler elastischer Fasern, tinktoriell jedoch schwächere oder fehlende Affinität zum sauren Orceïn, starke Affinität zu basischen Farbstoffen in alkalischer Lösung.

Methode von Unna und Krzysztalowicz: Entfernung des Celloidins. Färbung 10 Minuten in saurem Orceïn. Auswaschen in Alkohol, dann in Wasser. Färbung 2 Minuten in polychr. Methylenblau. Auswaschen in Wasser. 10 Minuten in Orange-Tannin (33 proz. wässerige Tanninlösung mit Zusatz von etwas Goldorange) (Grübler). Gründliches Auswaschen in Wasser. Alkohol, Xylol, Balsam. — Elastin braun, Elacin blau, Kerne blau, Collagen gelb.

VI. Fettsubstanzen.

Untersuchung an frischen Präparaten:

Die innerhalb der Zellen befindlichen Fettkörnchen (Retinitis albuminurica) haben ein starkes Lichtbrechungsvermögen und zeigen chemischen Reagentien gegenüber folgendes Verhalten.

1. Sie verschwinden auf Essigsäurezusatz nicht.

2. Sie sind resistent gegen dünne (1—3 proz.) Kali- und Natronlauge.

3. Auf Zusatz von 1 proz. Osmiumsäure werden sie geschwärzt.

4. Auch die kleinsten Tröpfchen werden durch Jodviolett intensiv violett gefärbt.

5. Sie lösen sich auf Zusatz von Chloroform und Äther. (Vorher muss man das Präparat aber durch absoluten Alkohol entwässern, dann eine Zeit lang Chloroform oder Äther einwirken lassen, diese wiederum durch Alkohol entfernen und schliesslich in Kochsalzlösung untersuchen).

Zur Sichtbarmachung des Fettes in Dauerpräparaten haben wir 2 Methoden:

1. Die Osmierung des Fettes.

Fett wird durch Osmiumsäure intensiv geschwärzt. Diese Schwärzung ist bedingt durch Reduktion des Osmiumtetraoxyd zu metallischem Osmium, und kann durch Oxydationsmittel (Hypermangansaures Kali, Wasserstoffsuperoxyd) wieder gebleicht werden. Altmann und Starke haben nachgewiesen, dass die Osmiumsäure nur vom Olein reduziert wird, nicht aber von Palmitin- und Stearinfett. Doch erfahren letztere meist bei nachfolgender Alkoholbehandlung eine sekundäre Osmierung.

Zur Fixation benutze man die Marchi sche Methode (S. 102) oder besser das Flemming sche Gemisch (S. 37), 2—3 Tage lang, im Dunkeln, zur Vermeidung von Niederschlägen, dann gründliches Auswaschen in fliessendem Wasser und Anfertigung von Gefrierschnitten. Die Schnitte kommen dann noch einmal in 1 proz. Osmiumsäure im Dunkeln für 24 Stunden. (Doppelte Osmierung nach Sata.) Nach Schmorl tritt die sekundäre Schwärzung des Fettes noch besser ein, wenn man die gründlich ausgewässerten Schnitte mit absol. Alkohol behandelt. Danach entweder Untersuchung in Glyzerin oder Kali aceticum oder nach vorangegangener Kernfärbung mit ½—1 proz. Safraninlösung Entwässern in absol. Alkohol, schnelles Aufhellen in Benzin, reiner erwärmter Kanadabalsam (nicht Xylolbalsam). Präparate, die in Formol fixiert worden sind, werden mit dem Gefriermikrotom geschnitten, und dann in die Flemming sche Lösung gebracht. Weiterbehandlung wie oben.

Präparate, die osmiertes Fett enthalten (z. B. mit Osmiumgemischen fixierte Netzhäute, die in ihren Zapfen Ölkugeln enthalten), dürfen nicht in der gewöhnlichen Weise in Celloidin eingeschlossen werden, da Äther das osmierte Fett löst. An Stelle dessen Einschluss in Aceton-Celloidin (S. 57) oder in Chloroform-Paraffin. (Xylol löst osmiertes Fett ebenfalls.)

Diese früher allein zur Verfügung stehende Methode ist recht unzuverlässig, denn einmal wird nicht alles Fett reduziert und zweitens werden auch fettfreie, z. B. gerbsäurehaltige Elemente geschwärzt. Besser ist

2. Die Färbung mit Sudan III (Daddi) **oder Scharlach** (Michaelis).

Von den Azofarbstoffen sind in Gebrauch:

a) Sudan III (Benzol-Azobenzolazo — β — Naphthol) gesättigte Lösung in 70 proz. Alkohol und besser

b) Scharlach R oder Fettponceau (Toluol-Azotoluolazo — β — Naphthol).

Herxheimer empfiehlt folgende Lösungen:

Gesättigte Lösung von Fettponceau in

Alkohol. absol.	70,0 ccm
Wasser	10,0 „
10 proz. Natronlauge	20,0 „

Die Lösung ist sofort gebrauchsfähig und färbt das Fett schon in 2—3 Minuten sehr intensiv. Differenzieren mit 70 proz. Alkohol.

Eine noch intensiver färbende Flüssigkeit erhält man durch eine gesättigte Lösung von Fettponceau (bzw. Sudan III) in Aceton und 70 proz. Alkohol āā. Färbezeit 1—2 Minuten. Abspülen der Schnitte in 70 proz. Alkohol.

Die Methode gestaltet sich folgendermassen:

1. Gefrierschnitte nach Formolhärtung für 2—3 Minuten in 50 proz. Alkohol.

2. Farblösung. (Dieselbe ist vor dem Gebrauch zu filtrieren, und muss gut zugedeckt sein, damit sie nicht verdunstet und störende Niederschläge hervorruft.)

3. Eintauchen in 70 proz. Alkohol.

4. Destilliertes Wasser; eventuell mikroskopische Kontrolle oder Einschluss ohne Gegenfärbung oder

5. Hämatoxylinfärbung. (Am schönsten hebt sich das rot gefärbte Fett von den blau gefärbten Kernen ab, wenn man sehr zart mit Hämatoxylin nachfärbt, und die Schnitte zur Bläuung der Hämatoxylinfärbung in Lithionkarboniumlösung (bzw. Ammoniaklösung) abspült.

6. Destilliertes Wasser.

7. Fixieren in Farrantscher Lösung (Man löst 10 g bestes Gummi arabicum in 10 ccm dest. Wasser und setzt 5 g Glyzerin zu. Um das Gemisch zu konservieren, fügt man ein Stück Kampfer bei. Oder

man löst 0,1 g arsenige Säure in 10 ccm siedendem Wasser und 30 g Gummi in 20 ccm kaltem Wasser. Nach dem Erkalten der ersteren setzt man ihr zunächst 30 ccm Glyzerin und dann die Gummilösung zu) oder Einschluss in Glyzerin oder Lävulose.

Auf diese Weise kann man Dauerpräparate erhalten, namentlich, wenn man sie mit Damarlack zuschliesst. Mit Öl und Kanadabalsam darf man sie nicht behandeln, weil man sie dann erst mit Alkohol vollständig entwässern müsste, wodurch das Fett aufgelöst und die Färbung vollständig verwischt wird.

Diese Methode ist vorzüglich geeignet zur Darstellung der fettigen Degeneration beim Arcus senilis (Takayasu), zur Xanthomfärbung (Pinkus und Pick), und zur Färbung bei der Lipämie der Netzhaut und Aderhaut. Im letzteren Falle empfehlen sich aber mehr Flächenpräparate als Gefrierschnitte, da die Gefriermethode, wie früher (S. 21) schon auseinandergesetzt, sich für diese zarten Gewebe des Auges nicht eignet. Die in Formol fixierte Netzhaut und die vom Pigmentepithel durch Abpinseln befreite Aderhaut wird 12 Stunden lang mit Sudan III gefärbt, gründlich ausgewaschen, mit Fliesspapier abgetupft und in Glyzerin untersucht. Man erhält eine elektive Rotfärbung, die sich ausschliesslich auf das Lumen der Gefässe beschränkt. Ein sehr hübsches Bild geben namentlich die Aderhautpräparate, die geradezu das Aussehen von Injektionspräparaten annehmen. (Reis.)

Eine Blaufärbung des Fettes erzielt man nach Herxheimer durch eine konzentrierte Lösung von Indophenol in 70 proz. Alkohol. Vorfärbung mit Karmin.

Smith färbt mit einer konzentrierten wässerigen Lösung von Nilblausulfat oder Neumethylenblau ca. 10 Minuten. Gründliches Abspülen in Wasser oder besser noch in 1 proz. Essigsäure. Einbettung in Glyzerin oder Glyzeringelatine. Das Fett erscheint leuchtend rot, Kerne dunkelblau, Protoplasma hellblau, Fettsäure dunkelblau.

VII. Fibrin.

Fibrin färbt sich mit den sauren Anilinfarben (Pikrinsäure, Eosin, Säurefuchsin) und der Best schen Karminlösung (Fränkel). Sehr geeignet ist auch die van Giesonsche Färbung und die Mallorysche Bindegewebsfärbung (S. 132). Eine spezifische Färbung ist

die Weigert'sche Fibrinfärbungsmethode.

1. Fixierung in Alkohol, Sublimat oder Formalin. (An Schnitten von Chrompräparaten gelingt die Färbung ebenfalls,

wenn man dieselben auf etwa 10 Minuten in $^1/_3$ proz. Kal. hypermangan- und dann nach mehrfachem Wässern in einer 5 proz. Oxalsäurelösung einige Stunden liegen lässt.) Paraffinschnitte werden auf dem Objektträger mit verdünntem Alkohol festgeklebt, Celloidinschnitte müssen dem Objektträger angedrückt werden. Bringt man den Schnitt freibeweglich in die Farblösung, so rollt er sich zusammen.

2. Färbung 5—15 Minuten lang in konzentr. Anilinwassergentianaviolettlösung oder Methylviolettlösung.

(Man schüttelt 10 ccm Anilinöl mit 100 ccm Wasser mehrere Minuten gründlich durch, lässt das nicht gelöste Anilin sich absetzen und filtriert durch einen mit Wasser angefeuchteten Filter. Zu 90 ccm des klaren Anilinwassers, das kein Öltröpchen enthalten darf, gibt man 11 ccm konzentr. alkohol. Gentianaviolettlösung. Die Lösung ist vor dem Gebrauch zu filtrieren, hält sich nicht lange.)

3. Abspülen in 0,6 proz. Kochsalzlösung.

4. Abtrocknen auf dem Objektträger mit Fliesspapier.

5. 2—3 Minuten auf dem Objektträger in Jodjodkalilösung 1:2:100.

6. Abtrocknen mit Fliesspapier.

7. Wiederholtes Entfärben in Anilinöl-Xylol 2:1 oder schonender aa.

8. Gründliches Entfernen des Anilin-Xylols durch mehrfach gewechseltes Xylol.

9. Kanadabalsam.

Das Fibrin wird schön blau gefärbt, während alles andere, ausgenommen Bakterien, entfärbt wird. Vorfärbung mit Lithion- oder Alaunkarmin ist möglich. Auch manche hyaline Substanzen, verhornte Teile, Kernteilungen, Schleim u. s. w. färben sich.

VIII. Cholestearin

findet sich häufig im Glaskörper, im subretinalen und subchorioidalen Exsudat, in der Vorderkammer und Linse.

Die rhombisch flachen Krystalltafeln sind in Wasser, verdünnten Säuren und Alkalien unlöslich, dagegen in heissem Alkohol, Äther, Chloroform, Benzol, in flüchtigen Ölen und Eisessig leicht löslich.

Setzt man zu Cholestearin einige Tropfen Lugolscher Lösung (Jod 1,0, Jodkalium 1,0, Wasser 100,0), so wird dasselbe

dunkelbraun. Bei Zusatz von einigen Tropfen 30—40 proz. Schwefelsäure schlägt der Farbenton allmählich in Blaurot, Blaugrün und Reinblau um.

Um Bulbi, die Cholestearin enthalten, einzubetten, könnte eventuell die Einbettung in Natronseife (S. 63) in Betracht kommen.

IX. Verhornung.

A. Keratin, z. B. Kankroidperlen, färbt sich mit Hämatoxylin-Eosin oder Thionin leuchtend rot, mit Triacid grellrot, mit Pikrinsäure (van Gieson) zitronengelb, nach der Gramschen oder Weigert'schen Methode blau.

Sehr schöne Färbung erhält man durch die

Methode von Ebbinghaus: Färben in konzentr. wässeriger Lösung von Goldorange 15 Minuten oder länger. Dest. Wasser. 1 Minute in 1 proz. salzsaurem Alkohol (70 pCt.). Dest. Wasser. Neutralisieren der Schnitte in Ammoniakwasser, bis gelbe Wolken abgehen. Auswaschen in dest. Wasser, bis der Schnitt seine diffuse Gelbfärbung eben verloren hat. Gegenfärbung mit Hämatoxylin. Dest. Wasser. 96 proz. Alkohol (nicht zu lange), Origanumöl oder Xylol, Balsam. — Das Horn hebt sich schon makroskopisch in leuchtend gelbroter Farbe ab.

B. Keratohyalin (körniges Eleïdin [Ranvier]) unterscheidet sich vom Keratin durch seine Verdaulichkeit in Pepsin. Färbung der Körnchen mit Ranviers Pikrokarmin, Hämatoxylin, nach van Gieson, mit der Wasserblauorceïnmethode Unnas, mit der Weigertschen und Gramschen Methode.

Eine fast isolierte Färbung des Keratohyalins (nur die Mikroorganismen der Epidermis blieben ebenfalls gefärbt) erhält man nach folgenden Methoden von Unna: a) Färbung 2 Minuten in polychromen Metyhlenblau, Auswaschen in Wasser. 2 Minuten in eine Schale Wasser mit Zusatz je eines Kristalls Jod und Jodkali. Differenzieren in 1 proz. pikrinsaurem Anilin (Kontrolle durch das Mikroskop), Anilin, Xylol, Balsam. b) Färbung 2 Minuten in polychromem Methylenblau, Auswaschen in Wasser. Differenzieren (unter Kontrolle des Mikroskops) in Ac. tann. 1,0, Ac. nitr. 0,1, Eosin 1,0, Anilin 100,0. Dann Anilin, Xylol, Balsam.

Methode von Herxheimer: Einlegen von Schnitten, die 24 Stunden in absol. Alkohol gelegen haben, in Anilinwassermethylviolett (½ Stunde lang). Entfärbung mit käuflichem 2 proz. Mentholvasogen (von Pierson in Hamburg). Abtupfen damit ¼—½ Stunde lang. Xylol, Balsam.

Methode von Pasini: 10 Minuten in 2 proz. wässeriger Lösung von Acid. phosphorwolframicum. Kurzes Abspülen in dest. Wasser. 15—20 Minuten in folgender Färbemischung: 10 Tropfen Wasserblauorceïnmischung + 12 Tropfen Eosin BA zu 2 proz. in Alkohol 50 pCt. + 1 Tropfen gesättigter, wässeriger Säurefuchsinlösung + 5 Tropfen neutrales Glyzerin. Abspülen in dest. Wasser. Absoluter Alkohol. Aber-

maliges Eintauchen auf wenige Sekunden in die Wolframphosphorsäurelösung. Absol. Alkohol, Xylol, Balsam. Epithelfasern und -kerne dunkelrot, Keratohyalinkörner rot, Protoplasma der Stachelschicht blau, Hornschicht gelblichrot.

C. **Eleïdin** (Huile essencielle [Ranvier], Keratoeleïdin [Rabl]).

a) Methode von Buzzi: Färben dünner Hautschnitte einige Minuten lang in einem Uhrschälchen mit 2—3 Tropfen einer 1 proz. wässerigen Congorotlösung. Abspülen in Wasser. Schnitt diffus, schwach rosarot, Eleïdin intensiv rot. Bei Behandlung der Schnitte mit schwachen Säuren geht die rote in eine blaue Farbe über und bleibt so, bis die Säure neutralisiert wird. Zur Doppelfärbung eignet sich Hämatoxylin. Eleïdin rot, Keratohyalin blau.

b) Methoden von Dreysel und Oppler: Härtung der Hautstücke 2—3 Tage in absol. Alkohol. Celloidineinbettung. Schneiden mit trockenem Messer, 2—3 μ und Färbung 1 Minute in Karmin, Liq. Ammon. caust., gesättigte wässerige Pikrinsäure, $\overline{aa}$ 1,0, Aq. dest. 200,0. (Vor Verwendung der Farblösung lässt man das Ammoniak abdampfen, entweder im Wasserbade oder in offener Schale. Sorgfältiges Filtrieren der Lösung vor dem Gebrauch.) Gründliches Auswaschen in Wasser. Färbung in stark verdünnter Alaunhämatoxylinlösung 24 Stunden. Abspülen in Wasser, Alkohol, Nelkenöl, Balsam. Kerne violett, Eleïdin rötlich gelb.

Färbung mit wasserlöslichem Nigrosin (Grübler): Färbung 1—2 Minuten in einem Schälchen mit Wasser, dem 5—6 Tropfen einer 1 proz. wässerigen Nigrosinlösung zugesetzt sind. Doppelte Abspülung der Schnitte in Alkohol, Nelkenöl, Balsam.

X. Schleimige Entartung.

Alkohol und Essigsäure rufen in schleimig entartetem Gewebe Gerinnung hervor. In alkalischen Flüssigkeiten löst sich der Schleim. Zur Fixierung eignen sich Formalin oder Sublimat. Die Becherzellen der Konjunktiva treten bei Karminfärbung schon bei ganz schwachen Vergrösserungen als helle Lücken im Epithel hervor, da das Protoplasma der Zellen sich nicht mit Karmin färbt. Nur der Kern wird gefärbt, ebenso wie bei der Färbung mit ganz schwachen Hämatoxylinlösungen. Durch die gewöhnliche unverdünnte Hämatoxylinlösung wird aber der Inhalt stark blau und lässt sich nur schwer von dem Kern abgrenzen. Eosin färbt den Zellinhalt nicht, wohl aber Fuchsin (intensiv rot), Safranin (orangerot), Methylenblau (dunkelblau), Färbung nach van Gieson. Auch die Weigertsche Markscheidenfärbung eignet sich zur Darstellung der Becherzellen. Während das Epithel der Konjunktiva bei dieser Färbung in der Entfärbungsflüssigkeit bis zu einem leicht bräunlichen Farbenton abblasst, entfärben sich die Zellleiber der Becherzellen vollständig; ihr Kern bleibt aber

völlig schwarz gefärbt, so dass sie sich im hellbraunen Epithel als wasserhelle, schwarz kontourierte Blasen mit schwarzem Kern abheben (Michelsohn-Rabinowitsch). Bei Mallorys Bindegewebsfärbung treten die schön blau gefärbten Becherzellen deutlich zwischen den gelblichroten Kernen der Epithelzellen hervor. Eine vorzügliche Schleimfärbung ist auch die mit Thionin (Hoyer) und Toluidinblau.

Am deutlichsten ist die Färbung an Objekten, die in konzentrierter wässeriger Sublimatlösung fixiert und ohne Auswässern oder Nachbehandlung mit Jodalkohol in absolutem Alkohol schnell nachgehärtet werden. Einbetten in Celloidin oder besser in Paraffin.

Das Verfahren ist folgendes:

1. Fixierung in konzentr. wässeriger Sublimatlösung.
2. Möglichst kurzes Nachhärten und Entwässern in absol. Alkohol.
3. Einbetten in Paraffin; Schneiden.
4. Eintauchen der entparaffinierten Schnitte in konzentrierte, wässerige Sublimatlösung (½ Minute).
5. Abspülen in Alkohol.
6. Färben in verdünnter Thioninlösung (2 Tropfen einer heissgesättigten wässerigen Lösung auf 5 ccm Wasser).
7. Abspülen in Alkohol 90 pCt.
8. Kurzes Entwässern in Alkohol absol.
9. Aufhellen in Minotschem Gemisch (1 T. Nelkenöl und 5 T. Thymianöl).
10. Zedernöl-Balsam.

Das Mucin wird blaurot bis rotviolett, die übrigen Gewebsbestandteile hellblau gefärbt. Ähnlich wie Schleim färben sich oft auch Knorpel, Gehirnsand, manchmal auch Bindegewebe und elastische Fasern.

Die Thioninfärbung ist meist sehr vergänglich, durch die Behandlung mit Alkohol und Xylol schlägt der rote Farbenton in einen mehr oder minder intensiven rotvioletten um. Die Kontrastfärbung tritt daher am besten hervor, wenn man die Schnitte direkt nach der Färbung in Wasser abspült und in diesem untersucht.

Eine elektive Färbung ist

P. Mayers Muzikarminfärbung.

Karmin	1,0 g
Chloraluminium	0,5 g
Dest. Wasser	2 ccm

über der Flamme 2 Minuten erhitzen, unter fortwährendem Rühren, bis das Gemisch dunkel ist, dann 100 ccm 50 proz. Alkohol hinzusetzen, nach 24 Stunden filtrieren. Vor dem Gebrauch ist diese Stammlösung (vorrätig bei Grübler) mit gewöhnlichem Wasser 1:10 zu verdünnen. Färbedauer 10 Minuten oder länger. Der

Schleim wird rot gefärbt. Eventuelle Vorfärbung der Kerne mit Hämatoxylin.

XI. Hyaline und kolloide Entartung.

Das Hyalin tritt in Gestalt von Kugeln und verästelten Balken auf, und teilt mit dem Amyloid die starke Durchsichtigkeit und den Glanz, wird aber durch Jod nur strohgelb gefärbt. Es ist unlöslich in Wasser, Alkohol und in mittelstarken Säuren und Basen, dagegen löslich in starker Kalilauge und konzentr. Salzsäure. Alle hyalinen Substanzen färben sich sehr intensiv mit den sauren Anilinfarben. Klebs unterschied epitheliales Hyalin (Colloid) und konjunktivales (parablastisches) Hyalin. Nach Ernst wird ersteres bei der Anwendung der van Giesonschen Methode orange bis gelbbraun, letzteres leuchtend rot gefärbt. Lubarsch unterscheidet: 1. Secretorisches und degeneratives, intrazellulär gebildetes Hyalin (Colloid): a) epitheliales, b) konjunktivales. 2. Extrazellulär entstehendes Koagualationshyalin: a) hämatogenes, b) konjunktivales.

Hyaline Entartung findet sich sehr häufig im Auge. Ein Übergang der hyalinen Degenerationsprodukte in amyloide ist an der Konjunktiva von einigen gefunden, von anderen nicht konstatiert worden (Vossius). Hyaline Einlagerungen finden sich bei der bandförmigen Hornhauttrübung, dem Greisenbogen (Fuchs), den Glashäuten und Drusen der Glaslamellen (Recklinghausen), den Drusen im Sehnervenkopf, dem sklerotischen Hornhautinfiltrat (Berlin), der Fädchenkeratitis (Hess), in alten Hornhautnarben und Hornhautfisteln (Czermak), bei der senilen Verdickung der Stützfasern der Netzhaut (Kühne), der senilen Entartung der Ciliarfortsätze (Kerschbaumer) und bei seniler Katarakt (Morgagnische Kugeln).

Als Fixierungsflüssigkeiten sind Formalin, Zenkersche Flüssigkeit, Müllersche Lösung, Alkohol u. s. w. zu verwenden. Zur Einbettung empfiehlt sich Paraffin mehr als Celloidin, weil letzteres sich bei der Hyalinfärbung stark mittingiert. Spezifische Färbungsmethoden gibt es nicht. Hübsche Bilder erhält man mit folgenden Methoden:

1. Färbung nach van Gieson (S. 91), Hyalin leuchtend rot oder orange.

2. Färbung nach der Weigertschen Fibrinmethode (S. 140), Hyalin blau bis violett.

3. Färbung nach Russell (S. 129), Hyalin leuchtend rot.

4. Färbung mit Methylgrünpyronin nach Pappenheim (S. 130), Hyaline Kugeln blau, Körner der Plasmazellen rot.

XII. Amyloide Entartung.

Unter Amyloidentartung versteht man die Ablagerung eines hyalinen, zu den Eiweisskörpern gehörigen Stoffes in den Geweben. Amyloide Organe zeichnen sich durch einen erhöhten Gehalt an Chondroitinschwefelsäure (Krakow, Hanssen) aus. Das Amyloid ist sehr widerstandsfähig gegen Säuren, Alkalien, künstliche Verdauung, es ist unlöslich in Wasser und Alkohol.

Zur Fixation eignen sich Alkohol, Formol, Formol - Müller, Sublimat. Als Einbettungsmasse ist Celloidin dem Paraffin vorzuziehen. Die besten Färbungsresultate erhält man aber an Gefrierschnitten nach vorheriger Formolfixation.

Als Färbung ist die Doppelfärbung mit Hämatoxylin-Eosin und die van Giesonsche Färbung zu empfehlen; im ersteren Falle färbt sich die amyloide Substanz rosa, im letzteren rosa bis braunrot. Auch konzentrierte Lösungen von Sudan oder Scharlach färben bei langer Einwirkung das Amyloid oft rosa.

Ausserdem gibt es noch einige spezifische Amyloidreaktionen:

1. **Jodreaktion** (Virchow). Man bringt die Schnitte in verdünnte Lugolsche Lösung (1:3) 3—10 Minuten, wäscht in Wasser aus und untersucht in Glyzerin. Die amyloid degenerierten Partien werden braunrot, das übrige Gewebe hellgelb. Die braunrote Farbe wird noch glänzender, wenn man zu der Jodlösung 25 pCt. Glyzerin zusetzt.

Die Farbenreaktion ist vergänglich; bessere Resultate erhält man bei Anwendung des von Langhans für Glykogenpräparate empfohlenen Verfahrens, das man nach Lubarsch folgendermassen ausführt:

a) Färbung der Schnitte in alkoholischer Karminlösung.
b) Überführen in Lugolsche Lösung (5—10 Minuten).
c) Rasches Entwässern in einer Mischung von offizin. Jodtinktur 1.0 und Alkoh. absol. 4.0.
d) Abtupfen mit Klosettpapier.
e) Aufhellen und Konservieren in Ol. Origani. Umranden des Deckglases mit Paraffin und Siegellack.

2. **Jodschwefelsäurereaktion** (Langhans). Legt man einen, in der eben angegebenen Weise mit Jod behandelten Schnitt in

1 proz. Schwefelsäure, so wird die braune Farbe entweder eine gesättigtere, oder sie geht in eine violette, blaue bis grüne Färbung über. Manchmal treten einzelne dieser Farbennuanzen schon bei blosser Jodbehandlung auf.

Die Corpora amylacea (Amyloidkörperchen), die sich am häufigsten bei der aszendierenden Atrophie nach Phthisis bulbi im Sehnerven, Chiasma, Tractus und noch weiter zentralwärts bis in die Corpora geniculata externa und auf der Oberfläche der Sehhügel finden, geben nur zum Teil die Amyloidreaktion; durch Jod und Säuren werden sie schön violett gefärbt, während die zarte Kapsel, welche sie umgibt, nur eine gelbe Färbung annimmt.

Anm. Nach Siegert werden nur die sogenannten Corpora versicolorata gefärbt. Er empfiehlt zu ihrer Darstellung neben der von Langhans für den Glykogennachweis angegebenen Methode folgendes Verfahren: Nach Fixation in Alkohol oder Müller scher Flüssigkeit werden die gut ausgewaschenen Schnitte in starker Jodjodkaliumlösung rasch tiefbraun gefärbt, und dann mit konzentr. Alkohol so lange behandelt, bis sie ungefärbt aussehen. Sie kommen dann in 20 proz. Salzsäurelösung, bis die Amyloidkörperchen als dunkle Pünktchen hervortraten, werden rasch in Wasser entsäuert, in jodhaltigem Alkohol (4 T. Alkohol, 1 T. Jodtinktur) entwässert und in Origanumöl konserviert. Die Corpora versicolorata sind tiefbraun gefärbt.

Ein anderer Teil der Amyloidkörperchen, die Corpora flava, zu denen die Corpora arenacea, die Psammonkörner (und ein Teil der Prostatakonkremente) gehören, nimmt keine Amyloidreaktion an, sondern verhält sich wie hyaline Substanzen.

3. **Methylviolett- und Gentianaviolettreaktion.** Dieselbe ist nicht absolut sicher, da sich unter Umständen auch andere Dinge, z. B. Schleim, kolloide Substanzen, Mastzellengranula und junges Knorpel- und Knochengewebe färben. Vor Verwechslung schützt das morphologische Verhalten und die Jodreaktion.

a) Färben in einer 2 proz. wässerigen Methylviolett- oder Gentianaviolettlösung (½—15 Minuten).
b) Auswaschen in 2 proz. Essigsäure oder 1 proz. Salzsäure (2—3 Minuten).
c) Gründliches Auswaschen in Wasser. Abtupfen mit Fliesspapier.
d) Untersuchung und Einbettung in Glyzerin, besser noch in konzentr. Lösung von Kali aceticum, Lävulose oder Zuckersyrup. Einlegen in Kanadabalsam ist unzulässig.

Die Amyloidsubstanz ist purpurrot, das übrige Gewebe blau gefärbt.

4. **Methylgrün** wird in derselben Weise angewendet wie Methylviolett. Die amyloiden Partien färben sich violett, das übrige Gewebe, namentlich die Kerne, grün.

5. **Jodgrün** (Stilling). Färben 42 Stunden lang in einer Lösung von 1:300 Wasser. Abspülen in destilliertem Wasser, Einlegen in Glyzerin oder Lävulose. Die amyloiden Teile färben sich rotviolett, das übrige Gewebe grün.

6. **Thionin** (nach Kantorowicz). Färben 5 Minuten lang in konzentr. wässeriger Thioninlösung, Auswaschen in dest. Wasser, Abtrocknen auf dem Objektträger mit Fliesspapier, Entwässern und Aufhellen in Anilinöl-Xylol (2:1), Auswaschen in Xylol, Balsam.

Die amyloiden Teile färben sich hellblau bis lila, das übrige Gewebe bläulich bis violett.

7. **Methode von Birch-Hirschfeld.** Dieselbe gewährt eine sehr scharfe Abgrenzung der amyloid degenerierten Partien, welche leuchtend rot gefärbt werden, gegenüber dem anderen Gewebe, dessen Kerne braun gefärbt sind:

a) Färben in einer 2 proz. spirituösen Bismarckbraunlösung (5 Minuten).
b) Abspülen in absol. Alkohol.
c) Auswaschen in dest. Wasser (10 Minuten).
d) Nachfärben in 2 proz. Gentianaviolettlösung (5—10 Minuten).
e) Auswaschen in angesäuertem Wasser: 10 Tropfen Essigsäure auf ein Uhrschälchen mit Wasser, bis der braune Farbenton des Bismarckbraun wieder erschienen ist.
f) Gründliches Auswaschen in Wasser.
g) Einschluss in Lävulose.

8. **Polychromes Methylenblau.** Fixierung der Präparate in Formalin, Sublimat, Alkohol.

a) Färben in polychromen Methylenblau (10—15 Minuten).
b) Abspülen in Wasser.
c) Kurzes Eintauchen in ½ proz. Essigsäure (10—20 Sekunden).
d) Übertragen in konzentr., zur Hälfte mit Wasser verdünnte Alaunlösung (2—5 Minuten).
e) Abspülen in Alkoh. absol. (½ Minute).
f) Entwässern in Alkoh. absol. (¼—½ Minute).
g) Xylol. — Balsam.

Die amyloiden Teile sind hellrot, die Zellkerne dunkelblau, das Protoplasma hellblau gefärbt. Wenn die Präparate im Dunkeln aufbewahrt werden, hält sich die Färbung lange Zeit unverändert.

Anm. Über das Vorkommen eigenartiger homogener gelber Einlagerungen in alten Hornhautnarben von amyloider oder colloider Natur berichtet uns v. Hippel. Nach Fixation in Müllerscher Flüssigkeit und Behandlung der Schnitte mit Hämatoxylin, Alaunkarmin, Gentianaviolett, Säurefuchsin (v. Giesonsche Färbung), Thionin erschienen dieselben ausgesprochen gelb, ebenso bei der Weigertschen Fibrinfärbung. Mit der Gabbetschen Methode der Tuberkelbazillenfärbung[1]) behandelt, wurden die Massen zum grössten Teil leuchtend rot und hoben sich vorzüglich von dem blauen Grunde ab. Dies war die einzige Methode, bei welcher sie einen Farbstoff annahmen. Mit Jodlösung behandelt, nahm ein Teil der Gebilde eine ausgesprochen mahagonibraune Färbung an, während ein anderer Teil nur strohgelb wurde, wie das übrige Gewebe. Nach Fixation in Formol und Zusatz von konzentr. Schwefelsäure zu den Schnitten wurden die Schollen erst bräunlich, dann mehr rötlich, und schliesslich violett. Bei Zusatz von Jodjodkaliumlösung wurde ein Teil der Körner innerhalb ca. 10 Minuten ausgesprochen rotbraun, Gentianaviolett liess den grössten Teil unbeeinflusst, einige wurden rosa. Bei Hämatoxylin-Eosinfärbung erschien der grösste Teil deutlicher gelb, als in ungefärbten Schnitten, eine kleine Gruppe färbte sich violett. Thionin färbte die Gebilde hellblau. Die schönsten Bilder gab folgende Methode: Überfärben in Hämatoxylin, Abspülen, Nachfärben in Karbolfuchsin[2]). Differenzierung in salzsaurem Alkohol. Nach v. Gieson färbten die Einlagerungen sich violett.

XIII. Glykogen

findet sich in Lidkarzinomen und Aderhautsarkomen, regelmässig bei Entzündungen, bzw. Eiterungen, so bei Hornhautulcerationen, Iridocyclitis, Glaskörperabszess, Panophthalmie. Es findet sich ferner im Pigmentepithel, der Netzhaut und im Corpus ciliare sowohl bei Entzündungen wie bei Netzhautdegeneration. Schliesslich auch beim Diabetes in der Iris, im Sehnerven und in der Netzhaut. (Best, Reis.)

Bei frischer Untersuchung zeigt sich das Glykogen in Form von Körnern, Kugeln und Schollen innerhalb des Zellleibes. Sie sind in Wasser löslich, dagegen unlöslich in Alkohol. Ungefärbtes

[1]) Vorfärben mit heissem Karbolfuchsin (2 Minuten), Abspülen mit Wasser, Nachfärben mit Schwefelsäuremethylenblaulösung (100 T. 25 proz. Schwefelsäure, 1 T. Methylenblau). — (Es nehmen bei dieser Methode auch andere Bazillen als die Tuberkelbazillen die rote Farbe an.)

[2]) Echtes Amyloid färbt sich nicht rot mit Karbolfuchsin.

oder gefärbtes Glykogen wird durch Zusatz von etwas Speichel in einigen Minuten bis Stunden in Zucker umgewandelt und so dem Nachweis entzogen.

Um das Glykogen färberisch darzustellen, bediene man sich prinzipiell des Nachweises mit Jod und der Karminfärbung nach Best. Eventuell ziehe man noch die Speichelreaktion zu Rate. (Gierke).

1. Jodmethode (Langhans). (Vgl. S. 146.)

Sie eignet sich am besten für Material, das in Alkohol gehärtet und in Celloidin eingebettet ist, aber auch für Deckglastrockenpräparate; dagegen nicht für Schnitte von ungehärteten Objekten. — Eine Verwechslung mit Amyloid ist, abgesehen von den morphologischen und Lagerungsverhältnissen — das Glykogen liegt meist innerhalb der Zelle — 1. durch die grosse Wasserlöslichkeit, 2. durch die Veränderung durch Speichel, 3. und 4. durch den negativen Ausfall der Jodschwefelsäurereaktion und der Gentianoviolettfärbung auszuschliessen.

2. Karminfärbungen nach Best.

Dieselben bringen das Glykogen prachtvoll zur Darstellung, sind sicher und fast ganz elektiv. Fixierung der Präparate in Formol u. A. Celloidineinbettung. (Paraffineinbettung lässt öfters im Stich.)

a) Ammonium-Lithiumkarminfärbung.

Man stellt sich folgende Karminlösung her:

Karmin	1,0
Ammon. chlorati	2,0
Lithion carbon.	0,5
Aq. dest.	50,0

Das Gemisch wird einmal aufgekocht, nach dem Erkalten wird Liq. Ammonii caust. 20,0 zugesetzt. Im Dunkeln aufbewahrt, ist die Lösung vom 2. bis 3. Tage ab brauchbar und einige Wochen (im Sommer kürzer) haltbar. Filtriert wird sie nur direkt vor dem Gebrauch. Die Färbung gestaltet sich dann folgendermassen:

1. Vorfärben mit Hämatoxylin; eventuelles Differenzieren in Salzsäure-Alkohol ist möglich. (Vorfärbung ist unbedingt nötig!)
2. Wasser.
3. ¾—1 Stunde färben in einer frisch hergestellten Mischung von obiger Karminlösung 2 Teile, Liq. Ammonii caust. 3 Teile,

Methylalkohol 6 Teile. Diese Mischung (nicht filtrieren!) ist immer frisch herzustellen und sofort zu benutzen. Man soll nur wenige Schnitte auf einmal darin färben.

4. Entfärben in mehrfach erneuerter Mischung von 2 Teilen Methylalkohol, 4 Alkohol absol., 5 Teilen Wasser — einige Minuten.

5. Alkohol 80 proz., Alkohol absol., Öl, Balsam.

b) Kaliumkarminfärbung.

1. Vorfärben mit Böhmerschem Hämatoxylin oder Hämalaun, stark, eventuell mit nachträglicher Salzsäurealkoholdifferenzierung.

2. Daraus kommen die Schnitte 5 Minuten in

Kaliumkarminlösung	2,0
Liq. Ammon. caust.	3,0
Methylalkohol	3,0

Diese Mischung hält sich in verschlossener Flasche nur wenige Tage, im Sommer kürzer als im Winter.

3. Differenzieren in:

Alkoh. absol.	80,0
Methylalkohol	40,0
Aq. dest.	100,0

einige (1—3—5) Minuten, bis die gewechselte Differenzierungsflüssigkeit klar bleibt.

4. 80 proz. Alkohol, absol. u. s. w. Balsam.

Die Kaliumkarminlösung ist sofort gebrauchsfähig und wird folgendermassen hergestellt:

Karmin	2,0
Kal. carbon.	1,0
Chlorkalium (KCl)	5,0
werden mit Aq. dest.	60,0

einige Minuten gekocht (schäumt, Vorsicht vor Überkochen!) und nach Erkalten 20.0 Liq. Ammonii caust. zugesetzt. Diese Kaliumkarminlösung hält sich gut in verschlossener Flasche für Glykogenfärbung etwa 2 Monate im Winter, 3 Wochen im Sommer brauchbar. Filtriert wird vor Gebrauch.

Die Kerne sind blau, das Glykogen leuchtend rot gefärbt. Sehr derbes Bindegewebe nimmt manchmal auch einen roten, jedoch nie so intensiven Ton an.

Um die Bestfärbung auch an Paraffinschnitten vornehmen zu können, verfährt man nach Lubarsch und Kleestadt folgendermassen: Die Objekte werden mindestens 4—5 Tage in Celloidin eingebettet, dann

in Ätheralkohol vom Celloidin befreit und wieder in Paraffin eingebettet (Chloroformparaffineinbettung oder noch besser Acetonparaffineinbettung).

XIV. Kalk.

Der in Form von Körnern oder Schollen im Gewebe abgelagerte Kalk erscheint im auffallenden Licht weissglänzend, im durchfallenden Licht intensiv dunkel. Bei Zusatz von Salzsäure, die man vom Rande des Deckglases her dem Schnitt zufliessen lässt, löst sich der Kalk auf, und zwar der kohlensaure Kalk unter Bildung von Gasblasen, der phosphorsaure ohne solche. Bei Zusatz von Schwefelsäure erfolgt ebenfalls Auflösung, dabei bilden sich Gypskrystalle. Organische Kalkverbindungen, wie sie bei der Konjunktivitis petrificans und in der Retina bei chronischer Nephritis vorkommen, lösen sich nicht nur in Mineralsäuren, sondern auch in konzentr. Kali- und Natronlauge. (Leber, Römer.) Das der Knochensalze beraubte (entkalkte) Knochengewebe tingiert sich mit Färbmitteln meist ebenso intensiv, als das verkalkte, und zwar kann man durch verschieden lange Kalkentziehung alle Nuanzen von der schwächsten bis zur stärksten Färbung erhalten.

1. Hämatoxylinfärbung.

Mit Alaunhämatoxylin färbt sich der Kalk schon in ganz kleinen Mengen charakteristisch dunkelblau, manchmal etwas rötlichblau. Nach Leutert kann man die geringsten Spuren von Kalk nach folgender Methode nachweisen:

1. Färbung (der nicht in Paraffin eingebetteten Objekte) in konzentrierter alkohol. Hämateïnlösung (¼ Stunde),
2. Auswaschen in Leitungswasser (¼ Stunde),
3. Nachfärben in 1 proz. wässeriger Safraninlösung (5—8 Stunden),
4. Abspülen in Wasser,
5. Differenzieren und Entwässern in Alkohol. Öl, Balsam.

Der Kalk ist tiefstahlblau, die Kerne sind leuchtend rot gefärbt. Die Präparate halten sich nicht für längere Zeit.

2. Purpurinfärbung. (Grandis u. Mainini.)

Frische Schnitte der zu untersuchenden Gewebe werden in Alkohol und dann in eine gesättigte alkoholische Purpurinlösung übertragen. In letzter Flüssigkeit verweilen sie etwa 5—10 Minuten, so lange nämlich, bis sie intensiv rot gefärbt erscheinen. Dann kommen sie in eine 0,75 proz. Lösung von Chlornatrium. (In

letzterer Flüssigkeit entsteht durch doppelte Zersetzung an den verkalkten Stellen eine kleine Menge Chlorkalcium, welches mit dem Purpurin den unlöslichen Niederschlag bildet.) Auswaschen mit 70 proz. Alkohol, bis keine Farbe mehr abgeht. Entwässerung. Xylol. Balsam. Die kalkhaltigen Stellen erscheinen intensiv rot gefärbt.

3. Silberimprägnation nach Kossa.

Zum Nachweis von phosphorsaurem Kalk.

a) Vorfärbung mit Alaunkarmin (oder Nachfärben mit Safranin).

b) 1—5 proz. Lösung von Argent. nitr. in hellem Tageslichte (5—60 Minuten).

(Es bildet sich hierbei phosphorsaures Silber, das im Licht reduziert wird).

c) Auswaschen in dest. Wasser.

d) Entfernen des überschüssigen Arg. nitr. durch Eintauchen in 5 proz. Lösung von unterschwefligsaurem Natron.

e) Abspülen — Entwässern — Öl — Balsam. Die geringsten Mengen Kalk sind schwarz dargestellt.

XV. Blut.

A. Deckglastrockenpräparat.

Zur Anfertigung eines solchen wird das dem Körper entnommene Blut auf einem Deckglas ausgestrichen, dann getrocknet, fixiert und gefärbt. Nach Abspülen mit dest. Wasser und Abtrocknen mit Fliesspapier erfolgt schliesslich Einschluss in Kanadabalsam.

1. Blutentnahme. Nach sorgfältiger Reinigung der Haut mit Äther oder Alkohol entnimmt man der Fingerbeere oder dem Ohrläppchen ein kleines Tröpfchen Blut mit einer ausgeglühten Mikroskopiernadel oder der F r a n k e schen Nadel. Den ersten austretenden Blutstropfen wische man ab und benutze zur Untersuchung erst den nächsten.

2. Ausstreichen auf dem Deckglas. Die Deckgläschen müssen sorgfältig gereinigt und darauf entfettet werden, was am besten und schnellstens durch dreimaliges Durchziehen durch die Flamme erzielt wird. Der Blutstropfen, der auf die Mitte eines Deckglases gebracht wird, soll die Grösse eines Stecknadelknopfes nicht überschreiten. Es wird sofort ein zweites Deckglas derartig darauf gelegt, dass die Ecken des einen über die Kanten des anderen zu

liegen kommen, also ein achteckiger Stern gebildet wird. Nachdem sich das Blut zwischen den Deckgläschen gleichmässig ausgebreitet hat, werden dieselben mit den Fingern rasch von einander abgezogen, wobei jeder Druck zu vermeiden ist.

3. Trocknen. Die Präparate bleiben ½—1 Minute mit der blutbestrichenen Seite nach oben liegen, damit sie lufttrocken werden.

4. Fixieren.

a) Fixation durch trockene Hitze (Ehrlich-Lazarus): Unter das eine Ende einer etwa 30 cm langen und 9 cm breiten Kupferplatte stellt man einen Bunsenbrenner oder eine Spiritusflamme. Nach einer viertelstündigen Erhitzung ist die Temperatur auf der ganzen Platte stationär geworden, erniedrigt sich jedoch mit der Entfernung von der Flamme. Nun lässt man mit Hülfe eines Glasstäbchens oder einer Pipette einige Tropfen Wasser auf die Platte fallen, und sucht die Zone, wo der Tropfen nicht mehr siedet, sondern als solcher auf der Platte umherrollt, also in den sphäroidalen Zustand gelangt. Diese Zone, welche man sich durch einen Strich auf der Platte bezeichnet, darf nicht überschritten werden, weil sonst das Präparat „überfixiert" wird, und sich mit dem Farbstoff nicht mehr gut färben lässt. Nun nimmt man das frisch ausgestrichene, lufttrockene Präparat und legt es mit der blutbestrichenen Seite nach unten auf die Kupferplatte, und zwar so, dass eine Kante des Deckgläschens etwas ausserhalb der genannten Zone (in der Richtung zu dem nicht erwärmten Ende der Platte) zu liegen kommt. Eine halbe Minute oder höchstens 45 Sekunden reichen vollständig aus, um eine überaus gelungene Fixierung zu erzielen. (Namentlich für Triacidfärbung geeignet.)

b) Fixation durch chemische Flüssigkeiten.

α) Einlegen der lufttrockenen Präparate für 1—2 Stunden in Alkohol absol. Äther $\overline{aa}$ (Nikiforow).

Dieses Verfahren ist nicht so universell zweckmässig.

β) Fixation, 1 Minute lang, in einer Mischung von 1 Teil (40 proz.) Formol und 10 Teile absoluten Alkohol (Benario).

γ) Fixation in Aceton, 5 Minuten, namentlich für Triacidfärbung (Jagiç).

δ) Fixation in unverdünntem Methylalkohol, 3—5 Minuten.

c. Dampffixation. Methode von Weidenreich. In eine nicht zu grosse Glasdose bringe man ungefähr

5 ccm einer 1 proz. Überosmiumsäurelösung und setze 10 Tropfen Eisessig hinzu. Die gereinigten Objektträger werden auf die Glasdose gelegt und den Dämpfen wenigstens 2 Minuten lang ausgesetzt. Das ganze wird mit einer nicht zu grossen Glasschale oder Glocke bedeckt. Dann erfolgt der Blutausstrich auf der beräucherten Seite des Objektträgers, indem man dabei am besten eine Spiraltour beschreibt. Der Blutausstrich wird wieder den Osmiumdämpfen ausgesetzt, 1 Minute lang. Ist die Blutschicht nach dieser Zeit noch nicht getrocknet, so nimmt man den Objektträger von der Dose weg und bewegt ihn einige Male hin und her. (Zu warnen ist vor einem zu langen Fixieren durch die Dämpfe, weil hierdurch die Färbbarkeit leidet). Nachdem er trocken geworden ist, zieht man ihn dreimal durch die Flamme und behandelt ihn nach dem Erkalten eine Minute lang mit einer sehr dünnen und ganz hellroten Lösung von Kaliumhypermanganat. Abspülen mit gewöhnlichem Wasser. Trocknen mit Fliesspapier. Besonders geeignet zur Färbung sind: das Ehrlichsche Triacid, die Färbung nach Giemsa, Gentianaviolett, Eosin-Methylenblau, Hämateïn nach Unna.

Die Resultate der Methode sind für alle Blutelemente sehr gut. Legt man nur Wert auf eine rasche Orientierung über die Form der Erythrocyten und die Arten der weissen Blutkörperchen, so kann man anstelle der Osmiumsäure das käufliche 40 proz. Formalin mit oder ohne Zusatz einiger Tropfen Eisessig benutzen. Die Behandlung mit Kal. hypermangan fällt dann fort.

5. Färben.

a) **Allgemeine Färbungsmethoden.** Für Übersichts- und Orientierungsbilder dienen die Färbungen

α) mit Hämatoxylin-Eosin, am besten in folgender Form: Vorfärben mit Hämalaun und Nachfärben mit Eosin (französisches reines Eosin 1,0, absol. Alkohol 140,0, Aq. dest. 60,0 oder Eosin BA Höchst 0,2, Aq. dest. 200,0).

β) mit Eosin-Methylenblau. Hiermit werden nicht nur alle Blutelemente dargestellt, sondern man erhält auch die verschiedenen Granula der Leukozyten in ihren verschiedenen Farbennuancen. Am meisten zu empfehlen ist eine Mischung dieser beiden Substanzen in einer Lösung, die gleichzeitig die Blutpräparate, die nach der gewöhnlichen Trockenmethode hergestellt sind, fixiert: dies geschieht in Methylalkohol. Jenner, May-Grünwald, Ziemann, Nocht, Reuter, L. Micha-

elis, Ruge, Maurer, Leishman, Asmann haben verschiedene Färbungsmethoden angegeben, die wir nicht einzeln anzuführen brauchen, da wir in der Methode von Giemsa ein Mittel besitzen, das allen Anforderungen entspricht. Auf die Beobachtung von Romanowsky fussend, wonach bei Mischung von Eosin- und Methylenblaulösungen ein neuer Farbstoff, das eosinsaure Salz des Methylenazur, auftritt, gelang es Giemsa, diesen Azurfarbstoff rein darzustellen. Grübler hält „Giemsas Farblösung zur Erzielung der Romanowsky-Färbung" vorrätig.

Azur II Eosin	3,0 g
Azur II	0,8 „
Glyzerin (Merck)	125,0 „
Methylalkohol (Kahlbaum I)	375,0 „

Die Ausführung der Färbung gestaltet sich folgendermassen:

1. Härten des gut lufttrockenen, sehr dünnen Ausstriches in Alkohol absol. (15—20 Minuten oder nach Belieben länger). Abtupfen mit Fliesspapier. Präparat zur Färbung zurechtlegen.

2. Verdünnen der Farblösung mit dest. Wasser (s. S. 81) in einem weiten graduierten Messzylinder unter gelindem, kurzem Umschütteln — 10 Tropfen der Farblösung (eventuell auch weniger, keinesfalls aber mehr) auf 10 ccm Wasser — wobei man die Lösung aus einer Tropfflasche hinzufliessen lässt.

3. Übergiessen der Präparate ohne jeden Verzug mit der soeben verdünnten Lösung. Färbedauer 10—15—30 Minuten, je nach Art und Alter der Präparate.

4. Kurzes, aber kräftiges Abspritzen mit Wasser, schnelles und behutsames Abtupfen mit Fliesspapier, trocken werden lassen und Einbetten in neutralen Kanadabalsam.

Zum Hervorrufen besonders intensiver Färbungen (namentlich auch zur Färbung der Spirochäten) ist es vorteilhaft, zu dem Wasser, bevor man es mit dem Farbstoff mischt, etwas Kaliumkarbonat (5—10 Tropfen einer 1 proz. Lösung auf 10 ccm Wasser) hinzuzufügen. — Überfärbte Präparate lassen sich in dest. Wasser (1—5 Minuten) sehr gut differenzieren. — Sobald der Farbstoff aus der verdünnten Lösung ausgefallen ist, ist dessen Färbekraft erschöpft. Man kann verdünnte Lösungen daher nur zur einmaligen Färbung benutzen. Die Tropfflasche muss, bevor die Lösung hineingefüllt wird, mit Alkohol. absol. ausgespült werden. Nach dem Einfüllen ist sie stets gut verschlossen zu halten. — Ungefärbte und ungehärtete

Präparate behalten jahrelang ihre Färbbarkeit, wenn man sie in gut verschlossenen Glaszylindern (Exsikkatoren) über geglühtem Chlorkalzium aufbewahrt. — Frische Präparate beanspruchen in der Regel eine längere Härtung, dafür eine kürzere Färbung; bei alten Präparaten ist das Umgekehrte der Fall.

Ganz ausgezeichnet bewährt sich die Färbung nach Giemsa auch nach vorheriger Fixation mit Osmiumdämpfen: Die roten Blutkörperchen werden grünlich gefärbt, ihre etwa vorhandenen Kerne oder Kernreste ebenso wie die Kerne der Leukozyten blauviolett, die Centrosomen der Leukozyten dunkelblau, die eosinophilen Granulationen und ebenso die neutrophilen in verschiedener Nuance des Rotvioletts, die körnige Substanz der Blutplättchen ebenfalls rotviolett, die Granula der Mastleukozyten blauviolett.

b) Spezielle Färbungsmethoden.

α) Lymphozytenfärbung mit Pappenheims Methylglyzerin-Pyroningemisch. (Grübler). 2—3 Federmesserspitzen Methylgrün 00 Kristall gelblich Grübler und 1—2 Spitzen Pyronin werden in 3—4 ccm Wasser gelöst. Färbung 5 Minuten, Abspülen in Wasser. Das Protoplasma wird rot, die Kerne grün gefärbt.

β) Eosinophile Leukozyten. Die Granula der grobgranulierten (eosinophilen) Leukozyten tingieren sich rot mit den sauren Farbstoffen, wie Eosin (S. 155), Orange, Aurantia, Fuchsin S. etc.

γ) Neutrophile (feingranulierte) Leukozyten. Die Granula färben sich mit neutralen Anilinfarben. Sie sind dicht gedrängt in den polynukleären Leukozyten vorhanden. Zur Färbung eignet sich besonders gut die Ehrlichsche Triacidlösung (Grübler). Man mischt 13—14 ccm einer gesättigten wässerigen Orange G-Lösung, 6—7 ccm ebensolcher Fuchsin S-Lösung, 15 Aq. dest., 15 Alkohol, 12,5 gesättigter wässeriger Methylgrünlösung[1]), 10 Alkohol und 10 Glyzerin; in dieser Reihenfolge werden die Stoffe in dem gleichen Messgefäss abgemessen und gründlich durchgeschüttelt. Färbungsdauer 5 bis 7 Minuten. Vorherige Fixation nach der Ehrlichschen oder Weidenreichschen Methode. Das Hämoglobin erscheint orangegelb, die Kerne grünlich, die eosinophile Körnung dunkel-

[1]) In Pappenheims Triacid (Grübler) ist das Methylgrün durch Methylenblau ersetzt.

grau, die neutrophile Körnung intensiv violett, Mastzellengranula ungefärbt.

δ) Basophile Leukozyten (Mastzellenkörnung). Die Granula sind durch die basischen Anilinfarben (bakterienfärbende: Methylenblau, Gentianaviolett, Fuchsin, Bismarckbraun) färbbar. Sehr gut gelingt die Darstellung mit der Giemsa schen Methode.

Methode von Ehrlich.

Alkohol absol.	50,0
Aq. dest.	100,0
Acid. acet. glacial.	12,5
Dahlia, bis zur fast vollständigen Sättigung.	

Färbung mehrere Stunden, abspülen, langes Ausziehen in Alkohol. — Zum Nachweis in Organen ist Alkoholhärtung notwendig. Färben 12 Stunden lang. Ausziehen in Alkohol. — Mastzellengranula blau.

Methode von Westphal dient zur gleichzeitigen Kernfärbung.

Grenachers Karmin (Karmin pur. 2,0, Aq. dest. 200,0, Alum. 5,0 gekocht, filtriert und Acid. carbol. 1,0 zugesetzt)	100 ccm
Glyzerin	100 ccm
Stark dahliahaltiger Alkohol absol.	100 ccm
Acid. acet. glacial.	20 ccm

Abspülen des gefärbten Deckglases, lufttrocken werden lassen. Kanadabalsam. — Die Mastzellen erscheinen als rotviolette Körnerhaufen. Die übrigen Kerngebilde sind sämtlich violett oder blau.

B. Schnittpräparat.

Das Prinzip der Romanowsky färbung wird durch folgende Methoden auf Schnittpräparate übertragen. Sie dienen nicht nur zur Darstellung von Zellkörnelungen, sondern auch von Bakterien und Protozoen.

1. Färbung nach Schridde.

Müller-Formol oder andere Fixierung. Dünne Paraffinschnitte. Färben 20 Minuten in verdünnter Giemsalösung (2 Tropfen auf je 1 ccm dest. Wasser). Sorgfältiges Auswaschen in Wasser. Abtrocknen. 1 Minute oder länger in Aceton purissim. (Kahlbaum), (eintretende Entfärbung beweist Säuregehalt des Acetons). Säurefreies Toluol oder Xylol, rectif. neutr. Kanadabalsam Grübler. Aufbewahren der Präparate im Dunkeln.

2. Färbung nach Zieler.

Formol-Müller oder Zenker sche Flüssigkeit. Färbung der Paraffinschnitte 2—3 Minuten in konzentr. Lösung (etwa ¼ pCt.) des May-Grünwald schen Farbstoffes (Grübler) in reinem Methylalkohol, die Lösung darf nicht aufgeschüttelt werden.

Gründliches Auswaschen etc. wie bei Schridde. Neutrophile Granulationen rot bis rotviolett, eosinophile lebhaft rot, basophile schwarzblau. Erythrozyten blassgrün bis orange, Protoplasma rosarot, Kerne blau.

3. Färbung nach Assmann.

15 Minuten in folgender Farblösung: zu 40 Tropfen methylalkoholischen Eosin-Methylenblau (Grübler) setzt man 20 ccm dest. Wasser, dem 5 Tropfen einer 1 proc. Essigsäurelösung beigemischt sind. Kurzes Abspülen in völlig wasserfreiem Alkohol absol., Xylol, neutraler Balsam.

Färbung der Plasma- und Mastzellen.

Plasmazellen finden sich in dem retikulären, adenoiden Gewebe der Konjunktiva, Mastzellen bei allen chronischen Bindehauterkrankungen und beim Trachom.

1. Methode von Unna.

Die Schnitte der in Alkohol gehärteten Präparate werden mit polychromem Methylenblau (altes basisches Methylenblau, welches methylenviolett- und methylenrothaltig ist) überfärbt, ¼—12 Stunden. Dann Abspülen in Wasser und Differenzieren in einer Mischung von Unnascher Glyzerin-Ätherlösung[1]) (Grübler) 1 Teil und 4 Teile Wasser, gewöhnlich ¼ Minute lang, sehr gründliches Abspülen in Wasser, Alkohol, Bergamottöl, Balsam. Mastzellen rot, Plasmazellen blau.

Man kann auch mit polychromen Methylenblau überfärben (½ Stunde lang), dann Abspülen in Wasser, Abtrocknen mit Fliesspapier, und gleichzeitig Entwässern und Differenzieren in einer Mischung von Alkohol 10,0, Xylol 15,0, Anilinöl 25,0 (3—5 Minuten). Dann reines Xylol. Balsam.

2. Zur **Färbung der Mastzellen** dienen ausserdem die Methoden von Schridde (S. 158), Zieler (S. 158), Assmann (S. 159), ferner die Färbungen von Ehrlich (S. 158) und Westphal (S. 158). Für die beiden letzteren Methoden fixiert man in Alkohol, färbt 12—24 Stunden, wäscht in Alkohol aus und bringt die Schnitte durch Öl in Balsam. Die Gewebskerne sind rot gefärbt, die Granulationen der Mastzellen und Bakterien blau.

3. Zur **Schnittfärbung der Plasmazellen** dient die Methode von Pappenheim: Härtung in absolutem Alkohol, Gefrier-, Celloidin- oder Paraffinschnitte. Färben 10 Minuten oder länger in der

[1]) Glyzerinäther ist ein Anhydrid des Glyzerins.

Methylgrün-Pyroninmischung (S. 146). Rasches Entfärben in Alkohol. Bergamottöl. Balsam. Kerne grün, Protoplasma der Plasmazellen rot.

Literatur.

Altmann, Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen. 1894. — Assmann, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 28. — Berlin, Arch. f. Ophth. Bd. 33. III. — Best, Verhandl. d. Deutschen path. Ges. 1901. — Zieglers Beitr. Bd. 33. 1903. — Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 23. 1906. — Bericht über d. 29. Vers. d. Ophth. Ges. Heidelberg 1901. — 32. Vers. 1904. — Beitr. z. Augenheilk. Bd. 5. H. 43. — Birch-Hirschfeld, Festschr. f. E. L. Wagner. Leipzig 1887. — Buzzi, Monatsh. f. prakt. Derm. Bd. 7. 1888. — Bd. 8. 1889. — Bd. 23. 1896. — Czermak, Arch. f. Ophth. Bd. 37. II. — Daddi, Arch. de biol. it. Bd. 26. 1896. — Dreysel u. Oppler, Arch. f. Derm. Bd. 30. 1895. — Ebbinghaus, Zentralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. Bd. 13. 1902. — Ehrlich, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 13. 1876. — Ehrlich-Lazarus, Die Anämie. Wien 1898. — Ernst, Beitr. z. path. Anat. Bd. 11. 1891. — Arch. f. path. Anat. Bd. 130. 1892. — Fischer, Arch. f. path. Anat. Bd. 170. 172. — Fränkel, Sitz. Biol. Abt. Ärztl. Ver. Hamburg 1908. — Fuchs, Arch. f. Ophth. Bd. 37. III. — Giemsa, Centralbl. f. Bakt. Bd. 37. 1905. — Gierke, Lubarsch-Ostertag. 1907. II. — v. Kahldens Techn. d. hist. Unters. path. anat. Präp. 8. Aufl. 1909. — Grandis u. Mainini, Atti della R. Acad. dei Lincei, Rendic. Vol. IX. Fasc. 8. I. Sem. 1900. — Hanssen, Biochem. Centralbl. Bd. 13. 1908. — Held, Die Entwicklung des Nervengewebes bei den Wirbeltieren. Leipzig 1909. — Herxheimer, Deutsche med. Wochenschr. 1901. No. 36. — Centralbl. allg. Path. 1903. No. 3/4 u. 20. — Hess, Arch. f. Ophth. Bd. 38. I. — Bd. 39. II. — v. Hippel, Arch. f. Ophth. Bd. 41. III. — Hoyer, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 36. 1890. — Jagiç, Wiener klin. Wochenschr. 1906. No. 20. — Jenner, Lancet I. 1899. — Kantorowicz, Centralbl. f. allg. Path. Bd. 120. 1890. — Kerschbaumer, Arch. f. Ophth. Bd. 34. III. — Klebs, Allg. Path. II. T. 1889. — Kossa, Zieglers Beitr. Bd. 29. 1901. — Krakow, Arch. f. exper. Path. Bd. 40. 1899. — Krzystalowicz, Monatsschr. f. prakt. Derm. Bd. 30. — Encycl. d. mikr. Techn. Abt.: Elastin. — Langhans, Arch. f. path. Anat. Bd. 120. 1891. — Leber, Arch. f. Ophth. Bd. 51. 1900. — Leishman, Journ. micr. Soc. London 1901. — Leutert, Fortschr. d. Med. Bd. 13. 1895. — Lubarsch, Ergebn. d. allg. Path. 1. Jahrg. Abt. 2. 1895. — Encycl. d. mikr. Techn. Art.: Amyloid, Colloid, Glycogen, Hyalin. — Mallory, Journ. exper. Med. Vol. 15. 1900. — Maurer, Centralbl. f. Bakt. Bd. 28. 1900. — May, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 8. — May u. Grünwald, Centralblatt f. inn. Med. 1902. No. 11. — P. Mayer, Mitteil. d. zool. Stat. Neapel. Bd. 12. 1896. — Metzner, Encycl. d. mikr. Techn. Art.: Altmannsche Granulamethoden. — L. Michaelis, Centralbl. f. Bakt. Bd. 29. 1901. — Virchows Arch. Bd. 164. — Deutsche med. Wochenschr. 1901. — Michelsohn-Rabinowitsch, Arch. f. Augenheilk. Bd. 55. 1906. — Nikiforow, Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 5. 1888. —

Nocht, Centralbl. f. Bakt. Bd. 24. 1898. — Bd. 25. 1899. — Pappenheim, Arch. f. path. Anat. Bd. 166. 1901. — Pasini, Centralbl. f. Bakt. Bd. 47. 1908. — Pinkus u. Pick, Deutsche med. Wochenschr. 1908. No. 33. — Pranter, Centralbl. f. allg. Path. Bd. 13. 1902. — Rabl, Morph. Jahrb. Bd. 10. 1885. — v. Recklinghausen, Handb. d. allg. Path. 1883. — Reis, Arch. f. Ophth. Bd. 55. 1903. — Reuter, Centralbl. f. Bakt. Bd. 30. 1901. — Römer, Arch. f. Ophth. Bd. 52. 1901. — Röthig, Arch. f. mikr. Anat. 1900. — Romanowsky, St. Petersb. med. Wochenschr. 1891. No. 34. — Ruge, Zeitschr. Hyg. Bd. 33. 1900. — Sata, Zieglers Beitr. Bd. 27. 1900. — Savini u. Savini-Castano, Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 26. 1909. — Schmorl, Untersuchungsmethoden. 2. Aufl. — Seefelder, Arch. f. Ophth. Bd. 73. 1909. — Schridde, Centralbl. f. path. Anat. Bd. 16. 1905. — Siegert, Arch. f. path. Anat. Bd. 129. — Spiegel, Arch. f. path. Anat. Bd. 189. — Starke, Arch. f. Phys. 1895. — Stilling, Arch. f. path. Anat. Bd. 103. 1886. — Stutzer, Arch. f. Ophth. Bd. 45. II. 1898. — Takayasu, Arch. f. Augenheilk. Bd. 43. 1901. — Unna, Histopathologie der Haut. 1894. — Monatsh. f. prakt. Derm. Bd. 12, 13, 19. — Encycl. d. mikr. Techn. Art.: Collacin, Collagen, Collastin, Glyzerinäther, Granoplasma. — Unna-Pappenheim, Monatsh. f. prakt. Derm. Bd. 35. 1902. — Unna-Taenzer, Monatsh. f. prakt. Derm. Bd. 12. 1891. — Virchow, Virchows Arch. Bd. 6, 8, 11, 14, 15. — Vossius, Zieglers Beitr. Bd. 5. 1890. — Weidenreich, Naturw. med. Ver. z. Strassburg, med. Sekt. 8. XII. 1905. — Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 8. — Folia hämatologica. Jahrg. III. 1906. — Weigert, Fortschr. d. Med. Bd. 5. 1887. — Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 4. 1887. — Centralbl. f. allg. Path. Bd. 9. 1898. — — Westphal, Inaug.-Diss. Berlin 1880. — Wolfrum, Arch. f. Ophth. Bd. 67. 1908. — Zieler, Centralbl. f. path. Anat. Bd. 17. 1906. — Ziemann, Centralbl. f. Bakt. Bd. 24. 1898.

Spezieller Teil.

Elftes Kapitel.

Cornea und Sklera.

Die im Leben glashell durchsichtige Cornea wird nach dem Tode glanzlos und trübt sich allmählich zunächst infolge der Quellung durch Aufnahme von Kammerwasser. Der Augapfel verliert nach einiger Zeit durch Wasserverdunstung und Fäulnis an Prallheit. Durch die Vertrocknung wird die Sklera dunkler und zugleich durchsichtiger — eine Erscheinung, die man auch entsprechend der Lidspaltenzone in Fällen lange dauernder Agone beim angelndem Lidschluss beobachten kann, namentlich bei abgemagerten Individuen. Es schimmert dann das Pigment der Chorioidea durch die ausgetrocknete Sklera hindurch, und auf diese Weise entstehen die Larcher schen Leichenflecken (Rossi). (Nach Larcher sind dieselben durch blutige Infiltration und Pigmentanhäufung in der Sklera bedingt.)

Derartige Augäpfel sind für die anatomische Untersuchung nicht zu gebrauchen. Wir können nur ganz frisches Material verwerten.

Die **Untersuchung der ganz frischen Hornhaut** ist die beste Methode zum Studium der Wanderzellen (Leukozyten) und des Saftkanalsystems mit den Hornhautzellen.

Zu diesem Zwecke bringt man die mit recht scharfen Scheren oder Lanzenmessern ganz oder stückweise ausgeschnitteten Hornhäute mit etwas Humor aqueus unter ein mit Schutzleistchen versehenes dünnes Deckglas, so dass aller Druck vermieden wird, und legt, um der Verdunstung vorzubeugen, einen dünnen Ölrand an. In dieser Weise eingedeckt, halten sich die Hornhäute 24—36 Stunden lang ohne bemerkenswerte Veränderungen. (Waldeyer). Die Wanderzellen werden in der Hornhaut

des Frosches nach 5—15 Minuten sichtbar. Um dieselben etwas beweglicher zu machen, kann man sich mit Vorteil des auf 36—40° erwärmten Objekttisches bedienen.

Anm. Ein einfacher erwärmbarer Objekttisch ist der von M. Schulze angegebene: Derselbe besteht aus einer Tischplatte von Messing, welche auf dem Objekttisch des Mikroskops durch Klammern befestigt werden kann. In der Mitte hat dieselbe eine auf das Loch des Tisches passende Öffnung, um die Lichtstrahlen durchzulassen. Ganz in der Nähe der letzteren ist ein Thermometer so befestigt, dass man stets die Temperatur des Tisches und damit des darauf liegenden Objektes ablesen kann. Seitlich läuft der Messingtisch in zwei Arme aus, unter welche Spirituslampen gestellt werden können.

Bringt man beim lebenden Frosch einen kleinen Einschnitt in den Skleralrand der Hornhaut an, und reibt man hier Körnchen von Zinnober oder Karmin ein, so zeigt uns die nach 12 und mehr Stunden isolierte Cornea verschiedene Wanderzellen mit den Farbemolekülen im Innern, bisweilen ziemlich entfernt von der Wunde, durch das Gewebe in Wanderung begriffen (Frey).

Das Saftlückensystem der Cornea („Hornhautkörperchen") mit den fixen Hornhautzellen tritt bei dieser Untersuchungsmethode in ca. 1 Stunde deutlich hervor. Die Kontraktilität der fixen Hornhautzellen prüfe man durch Zusatz von 4 proz. Lösung von phosphorsaurem Natron (v. Recklinghausen), durch mechanische und elektrische Reizung (Kühne, Engelmann, Stricker, Rollett, Hosch etc.).

Anm. Um auf einfache Weise elektrische Ströme durch ein unter dem Mikroskop befindliches Objekt zu leiten, verfahre man nach Harting auf folgende Weise: Auf einem Objektträger werden mit Stärkekleister zwei etwas schmälere Stanniolstreifen so befestigt, dass ein Teil des Stanniol die Kante des Objektträgers überragt, um mit dem Element oder dem Induktionsapparat verbunden werden zu können. Der Mittelraum des Objektträgers bleibt frei für das Präparat, das man zweckmässig in einer Glaszelle mit Flüssigkeit umgibt. Auf die Stanniolstreifen kitte man zwei Glasplättchen auf, um hier die Klemmen des Objekttisches aufruhen zu lassen. Zwei lose aufliegende Platindrähte stellen die Verbindung zwischen Stanniol und Glaszelle her.

Die Durchsichtigkeit der Hornhaut macht dieselbe besonders geeignet zur Beobachtung pathologischer Prozesse, namentlich der **Entzündung** und der dabei stattfindenden Gewebsveränderungen. Zu diesen Versuchen eignen sich die Hornhäute von Fröschen, Meerschweinchen, Kaninchen, namentlich aber von jungen, 3—6 Wochen alten Katzen (Stricker).

I. Man kann eine **oberflächliche Keratitis** hervorrufen:

1. durch mechanische Mittel (Abpinseln des Epithels, Abschaben desselben mit einem scharfen Messer; Blosslegung und Verdunstung; glühende Nadeln; Menschenhaare, die zwischen die Lamellen der Cornea eingeführt werden (Ein- und Ausstichspunkt 1 mm von einander entfernt).

Anm. Um das Epithel mit den äusseren Hornhautlamellen zu entfernen, macht man an zwei gegenüberliegenden Stellen des Hornhautrandes etwa 1 mm von diesem entfernt, zwei oberflächliche Inzisionen von 3—4 mm Länge und verbindet sie durch zwei senkrecht geführte seichte Schnitte. Mit dem Messer löst man den Rand des umschriebenen Rechteckes, umfasst ihn mit der Pincette und entfernt das Stück mit Nachhülfe einer Lanze (Wadsworth u. Eberth).

2. durch Ätzung mit chemischen Reagentien:

a) in Dampfform (Joddämpfe),

b) in flüssiger Form (Kantharidentinktur, Kollodium, Äther, ätherische Öle, Essigsäure, konzentrierte Schwefelsäure, Kal. caust., Arg. nitr., Chlorzink [1 Teil auf 2 Teile Aq. dest. mit Zusatz einiger Tropfen Acid. hydrochlor.; damit getränkter Seidenfaden ½ Minute auf das Zentrum der Cornea einwirken lassen (Schottländer)]. Nach Ätzung mit Chlorzink wird die betreffende Stelle mit der Spitze einer Nadel gereizt (Böttcher),

c) in fester Form (trockenes Kal. caust., Chlorzinkstift, Höllensteinstift. Letzterer soll zugespitzt und dann noch hinterher durch Bimstein weiter abgeschliffen sein.

3. durch Trigeminusdurchschneidung (Senftleben), Exstirpation der Nickhaut, Zerstörung der Ganglion Gasseri, Durchschneidung aller cerebrospinalen Nerven (v. Pfungen).

4. Am einfachsten durch Impfung mit Bakterien oder Pilzen (Aspergillus fumigatus). (Leber.)

II. Um einen **Defekt in dem Hornhautendothel** anzubringen, hat Peters ein kleines Instrument nach Art einer Lanzette konstruiert. Dasselbe ist mässig spitz und verbreitet sich von der Spitze an allmählich nach einer Seite. Die so entstehende Schneide ist ca. 1 mm lang und gekrümmt, und zwar entspricht die Krümmung ungefähr der Wölbung der Cornea. Das Instrument wird (beim Frosch) peripher eingestochen, mit der Fläche parallel der Irisebene. Sodann wird die gekrümmte Schneide durch drehende Bewegungen des Instrumentes um seine

Längsachse zweimal an der Hinterwand der Cornea vorbeigeführt und dann rasch herausgezogen. Das Kammerwasser fliesst nicht allzu rasch ab, und es gelingt so bei einiger Übung, die Defekte in der sich nur wenig faltenden Cornea ziemlich in gleicher Grösse anzulegen.

Vor und nach der Entfernung des Epithels kann man den Fröschen Zinnober, Karmin oder noch besser Anilinblau mit einer Pravazschen Spritze in die Lymphsäcke, das Blut oder in die vordere Augenkammer einspritzen.

Hat man so auf die eine oder die andere Weise die Hornhaut vorbereitet, so erhält man die gewünschte Entzündung beim Kaninchen nach 24 Stunden, bei Sommerfröschen nach 2 bis 3 Tagen, in der doppelten Zeit bei Winterfröschen.

Die entzündeten Hornhäute werden dann vorsichtig herausgeschnitten und in Humor aqueus auf dem Objektträger frisch untersucht. Damit man dieselben glatt ausbreiten kann, wird eventuell der Rand mehrfach eingeschnitten. Die Lebenserscheinungen der fixen Cornealzellen sowohl wie die Wanderungsphänomene der amoeboiden Zellen lassen sich so viele Stunden lang beobachten. Man kann auch die entzündeten Hornhäute mit einer starken Zuckerlösung (7½—10pCt.) behandeln (Talma). In einer solchen Lösung sollen sich die fixen Hornhautzellen nahezu unverändert erhalten, während die Wanderzellen zu beinahe kugeligen, sehr stark lichtbrechenden Körperchen schrumpfen (Engelmann). Man färbt die Hornhäute zweckmässig mit Hämatoxylin; auch die Goldmethode von Cohnheim oder Ranvier oder das Verfahren von Bastian und Pritschard, sowie Silber- und Hämatoxylinfärbung und die kombinierte Silber - Goldmethode ermöglichen die sorgfältige Untersuchung der verschiedenen Stadien und zumal auch der sich lange hinausziehenden Ausgänge der entzündlichen Prozesse. Ferner sind Fixierung und Härtung in Müllerscher Flüssigkeit, 0,01 proz. Chromsäurelösung, Flemmingscher Lösung, Chrom-Ameisensäure (4—5 Tropfen konzentr. Ameisensäure auf 200 g einer $^1/_3$ proz. Chromsäurelösung [Rabl], Chromessigsäure (Chromsäure 0,25, Eisessig 1,0, Aq. dest. 100,0), Platinchlorid ($^1/_3$ proz.), Formol etc. und nachherige Färbung mit Hämatoxylin, Saffranin, Viktoriablau oder Heidenhains Methode in Anwendung zu bringen.

Um zu beweisen, dass die Einwanderung der Eiterkörperchen vollkommen unabhängig von vitalen Vorgängen erfolgt, reinigt

man tote Schweinehornhäute, trocknet sie und macht sie in sterilisierter 0,75 proz. Kochsalzlösung geschmeidig, injiziert sie nun mit Faulextrakt und führt sie in die Peritonealhöhle eines Kaninches ein: Man erhält so an der toten Cornea dieselben typischen Veränderungen wie an der lebenden.

Um zu beweisen, dass die Eiterzellen bei intakter Hornhaut sämtlich nicht in loco etwa durch Umwandlung aus den fixen Zellen entstanden, sondern vom Randnetz eingewandert sind, bringt man nach Leber mit einer spitzen Kapillare ein Quecksilbertröpfchen in die Vorderkammer eines Frosches und injiziert gleichzeitig in denRückenlymphsack eine Zinnoberaufschwemmung. Das Quecksilbertröpfchen senkt sich auf den Boden der Vorderkammer an die Hinterwand der Cornea und übt dort teils eine nekrotisierende, teils chemotaktische Wirkung aus. Um die nekrotisierte Stelle in der Hornhaut bildet sich ein Infiltrationsring, der aus Zinnober beladenen Eiterkörperchen gebildet ist.

Neben der Untersuchung der frischen Hornhaut stehen uns noch eine grosse Menge von Methoden zur Verfügung, um den feineren Bau derselben zu erforschen.

Um gute Übersichtsbilder der Cornea zu erhalten, fixiere und härte man den Bulbus wie gewöhnlich, teile ihn in eine vordere und hintere Hälfte, entferne die Linse, bette die vordere Hälfte in Celloidin (gewöhnliche Methode oder Celloidintrockenmethode) ein und fertige dünne Schnitte an, die man mit Hämatoxylin-Eosin färben kann.

Um Flachschnitte der Cornea mit dem Gefriermikrotom anzufertigen, bringt man zuerst eine Schicht Wasser zum Gefrieren und ebnet sie mit dem Mikrotommesser, dann setzt man mittelst eines Spatels die Hornhaut auf und darüber einen Tropfen Wasser und lässt gefrieren, so dass die Hornhaut, nach dem Gefrieren, bedeckt wird.

Anm. Die Hornhäute gehärteter Augen sind für Messungen nur mit Vorsicht zu benützen, da es zweifellos vorkommt, dass durch die Einwirkung der Reagentien die Dicke verändert wird.

An Goldchlorid- und Karminpräparaten macht sich bei manchen Vertebraten, namentlich beim Schwein und bei der Taube, eine Differenzierung der Hornhaut in 3 Schichten bemerkbar, welche sich durch verschiedene Färbung und verschiedenes Gefüge von einander sondern (nach Waldeyer als kutaner, skleraler und chorioidaler Anteil zu bezeichnen).

Spezielle Darstellungsmethoden.

A. Normale Histologie.

1. Cornealepithel.

Um die **Form der Zellen** kennen zu lernen, fertige man sich Zerzupfungspräparate an. Am schnellsten entfernt man das Epithel, wenn man die Cornea auf wenige Sekunden (beim Frosch) heissen Wasserdämpfen aussetzt (v. Recklinghausen). Schonender für die Epithelzellen, zugleich unter Isolation der Zellen von einander, gelingt es durch Mazeration in 10 proz. Kochsalzlösung (Schweigger-Seidel, Rollett) oder in $^1/_3$ Alkohol [28 Alkohol absol., 72 Wasser] (Ranvier). Man lässt nach Vossius Schweinehornhäute 2 Tage in diesem Alkohol und kann dann die obersten Epithelschichten mit einer Starnadel leicht in Form eines dünnen zusammenhängenden Häutchens abheben, am dritten Tage kann man durch leichtes Streichen auch die tiefsten Schichten auf die Nadel bringen. Untersuchung der abgestrichenen Epithelien in Wasser oder Glyzerin. Langerhans empfiehlt zur Darstellung der Epithelien, namentlich um die tiefen Lagen der Zellen von Resten der Basalmembran zu befreien, eine Mazeration mit konzentrierter Salpetersäure oder die von Czerny empfohlene Mischung von Müllerscher Flüssigkeit und Speichel zu beiden Teilen.

Ein sehr übersichtliches **Flächenbild** des Hornhautepithels erhält man durch die Versilberung: Man streiche mit einem Höllensteinstift über die Oberfläche der Cornea eines Frosches, bis sie trüb-weiss geworden ist und exponiert dann den abgetragenen Kopf in leicht mit Ameisen- oder Essigsäure angesäuertem Wasser dem Sonnenlicht. Je nach der Beleuchtung ist die Cornea in $^1/_4$—1 Stunde dunkelbraun geworden, man schneidet sie dann aus, macht einige radiäre Einschnitte, um sie besser ausbreiten zu können und untersucht sie in Glyzerin. Man erhält so ein positives Silberbild; das Protoplasma der Zellen ist hell- oder dunkelbraun gefärbt, etwas heller das Kernkörperchen. Die interzellulare Kittsubstanz bleibt klar, ebenso erscheint der Kern hell mit scharfen Umrissen. Selten wird das Protoplasma sehr dunkel, der Kern hellbraun, und bleibt das Kernkörperchen farblos. Da durch die dunkle Färbung der Zellkörper die tieferen Zellschichten verdeckt sind, so kann man die Betrachtung leicht nur auf eine Zellschicht beschränken. Mit ausserordentlicher Schärfe treten die Zellgrenzen hervor (Sattler).

Die **Protoplasmafäden** des Hornhautepithels lassen sich durch Protoplasmafarbstoffe und die Weigertsche Fibrinfärbung darstellen.

Vitale Granulafärbung (s. S. 23).

a) mit Neutralrot oder Methylenblau: Ein kleines Körnchen Neutralrot wird in den Bindehautsack eines Frosches eingeführt; schiebt man dasselbe möglichst bis zur Umschlagstelle vor, dann vermögen es die Tiere durch Bewegung der Nickhaut nicht herauszubefördern; ganz sicher ist dieser Eventualität durch Kurarisierung vorzubeugen. Nach 12—24 Stunden trägt man die Nickhaut und Cornea ab und untersucht sie ohne Zusatz; übrigens lassen sich die Präparate auch längere Zeit in 1 proz. Chlornatriumlösung aufbewahren.

Beschickt man den Bindehautsack mit Methylenblau in Substanz, so finden sich nach 12 Stunden die gleichen Granulabilder im vorderen Cornealepithel. Bei Anwendung dieser Methode kommen ausserdem noch Färbungen der Nerven zustande (Arnold).

b) mit Indigkarmin: Man bringt Fröschen 0,2—0,4 g Indigkarmin (Carminum caeruleum von Gehe u. Co., Dresden, oder Carminum caerul. von Brückner, Lampe u. Co., Berlin, C. 19) in Substanz in den Rückenlymphsack, und vernäht darauf den Einschnitt fest, oder injiziert diese Substanz in 3—5 ccm Wasser aufgeschwemmt. Hierzu benutzt man die Kanüle einer Pravazspritze, welche durch einen kurzen Kautschukschlauch mit einer kleinen Messingspritze verbunden ist. Man sticht nicht direkt in den Rückenlymphsack ein, weil sonst die injizierte Flüssigkeit bald wieder durch die Stichöffnung abfliesst, sondern man stösst ungefähr in Höhe der Kniebeuge in den Oberschenkellymphsack ein und führt die Kanüle unter der Haut nach oben, perforiert das dünne, bindegewebige Septum, das beide Lymphsäcke trennt, und befindet sich nun mit der Kanülenspitze im Rückenlymphsack; nach der Injektion wird die Kanüle langsam herausgezogen (Gerlach).

Bei Kaninchen verfährt man in zweifacher Weise: erstens wird subkutan unter die Rückenhaut injiziert; dabei kommen kolossal grosse Mengen zur Anwendung: 0,5—1,0 g pro dosi und 2,0—5,0 g innerhalb mehrerer bis 24 Stunden. Die intensivsten Tinktionen der Hornhaut gewährt die zweite Methode, Injektionen in die Vorderkammer. Nach Knies wird zunächst durch Punktion mit einer feinen Metallkanüle das Kammerwasser entleert, darauf

die mit einer übersättigten wässerigen Lösung bezw. Farbstoffsuspension gefüllte Spritze auf die Kanüle gesetzt und so viel injiziert, dass die Kammer von gewöhnlicher Tiefe hergestellt ist; nun kontrapunktiert man die Hornhaut und lässt die Kanüle gewissermassen als Tampon liegen, um ein Abfliessen des Farbstoffes zu vermeiden. Nach 2—6 Stunden erfolgt die Untersuchung.

In dieser Weise können auch supravitale Vorderkammer-Injektionen an lebensfrischen Schweins- und Ochsenaugen vorgenommen werden.

Zur Kontrastfärbung bringt man die am Deckglas leicht angetrocknete Hornhaut in eine konzentr. Chlorkalium-Glyzerinlösung, befreit sie hier mit einem feinen Starmesser vom Epithel und Endothel, legt sie für 10 Minuten in ein frisch hergestelltes Gemisch einer filtrierten gesättigten Chlorkalium-Glyzerinlösung mit konzentr. wässerigem Bismarckbraun $\overline{aa}$ und schliesslich in reines Chlorkalium-Glyzerin.

Schöne Bilder von den Parenchymzellen der Hornhaut samt ihren feinsten Fortsätzen erhält man, wenn man das Gewebe durch 1 proz. Sublimatlösung fixiert und dann (nach Wittich) in eine durch Paraffinum liquidum vor dem Luftsauerstoff geschützte reduzierte Indigolösung einlegt. Man vermischt in einer enghalsigen Flasche 3 Teile ungelöschten Kalk, 2 Teile Eisenvitriol und 1 Teil fein zerriebenen Indigo mit Wasser, schüttelt das Gemisch mehrmals tüchtig um und überlässt es so lange wohl verschlossen der Ruhe, bis die jetzt gelbliche Flüssigkeit klar über dem Bodensatz steht (Schreiber).

c) mit Bismarckbraun: Von einer warm damit gesättigten 0,92 proz. Kochsalzlösung werden viermal am Tage 5 Tropfen in den Bindehautsack des Frosches gebracht, so dass die Lösung auch mit der Cornea in Berührung kommt. Nach 3—4 Tagen ist die Granulafärbung vollendet, was man an der gelbbraunen Färbung der Hornhaut schon äusserlich erkennt. Bei der Untersuchung in gewöhnlicher physiologischer Kochsalzlösung lassen sich sowohl im Hornhautepithel wie in den Bindegewebszellen Granulationen erkennen. Mittels einer Lösung von Sublimatosmiumessigsäure lässt sich die Granulafärbung konservieren, indem man das Froschauge 8 Stunden in der Lösung lässt und dann noch auf 16 Stunden in Müller sche Flüssigkeit überträgt. Alsdann lässt sich die Hornhaut nach den gebräuchlichen Methoden weiterbehandeln (Colombo).

Vakuolen in den Epithelien. Darstellung durch Osmium.

Verhornung unter normalen Verhältnissen und bei parakeratotischer Schuppenbildung (L e n z), s. Keratin S. 142.

Zur genauen Untersuchung des **intercellulären Lückensystems** (sehr ausgeprägt beim Ödem der Hornhaut, Glaukom, Iridocyclitis, Panophthalmie etc.) empfiehlt L e b e r Einstichinjektionen mit Alkanna-Terpentinöl in die obersten Schichten der Hornhautgrundsubstanz. (Das Terpentin dringt aber nicht nur zwischen die Epithelzellen, sondern auch in die Substanz derselben und häuft sich in der Umgebung der Zellkerne in glänzenden Ringen oder Tröpfchen an.) Man macht Flächenschnitte der frischen oder wenige Tage in M ü l l e r scher Flüssigkeit erhärteten Cornea, wobei das Epithel samt einer möglichst dünnen Lage der Grundsubstanz abzutragen ist, weil so die Schnitte am wenigsten durch das ausfliessende Terpentinöl verunreinigt werden. Dieselben kommen dann nach vorsichtigem Abspülen für kurze Zeit in 1 proz. Osmiumsäure, welche dem Terpentinöl eine dunkle Färbung gibt und so die Verteilung desselben im Gewebe sehr deutlich erkennen lässt (F u c h s).

In gleicher Weise kann man die Intercellularlücken durch Injektion von indigschwefelsaurem Natron in das Gefässsystem des lebenden Tieres füllen. Darstellung der K i t t l e i s t e n mit der H e i d e n h a i n schen Eisenhämatoxylinmethode. Darstellung der Z e l l b r ü c k e n nach dem Verfahren von K o l o s s o w: Injektion einer Lösung von 100 ccm 5 proz. wässeriger Osmiumsäure, 0,5—1 ccm 30 proz. Salpetersäure, 1 ccm Eisessig und 10 bis 12 g Kal. nitricum, in das Gefässsystem so lange, bis die Oberfläche gleichmässig dunkel erscheint (2—3 Minuten). Dann Einlegen von kleinen Stückchen der injizierten Cornea für 16—24 Stunden in 0,5 proz. wässerige Osmiumsäure. Am nächsten Tage kommen die Stücke in 10 proz. wässerige Tanninlösung, die innerhalb der folgenden 24 Stunden so oft gewechselt wird, als sie sich noch dunkel färbt. Auswaschen in Wasser. Alkohol, Paraffin. Sehr dünne Schnitte (2—3 μ). Färbung nicht weiter nötig.

A n m. Beim Menschen ist das Epithel im Ganzen niedrig, gegenüber z. B. dem Verhalten des Epithels beim Rinde, wo es recht hoch und mehr geschichtet erscheint. Beim Frosch sind die Zellen etwas grösser und breiter. Auch beim Kalb und Schwein ist die Epithelschicht mächtiger als beim Menschen. Die Wassersäugetiere (Pinnipedier, Denticeten) zeigen starke Verhornung.

2. Vordere Basalmembran.

Eine unvollkommene **Isolierung** derselben vom tieferen Cornealgewebe lässt sich durch Mazeration in Salzsäure erzielen.

Ein **fibrillärer Bau** derselben ist mit Hülfe von Kal. hypermangan. nachzuweisen (Rollett).

Darstellung der kleinen **Fortsätze** (Zacken) der Vorderfläche und der längeren Fortsätze der Tunica propria der Conj. limbi mit Mallorys Hämatoxylin (S. 113).

Anm. Die vordere Basalmembran ist beim Menschen, Kaninchen, Meerschweinchen und den meisten Wiederkäuern gut entwickelt; beim Pferd, Ziege, Hund, Katze wird sie vermisst. Bei Vögeln ist sie stark entwickelt, beim Frosch sehr gering. Sie fehlt bei den Cyklostomen, ist dagegen bei Selachiern und Teleostiern meist vorhanden.

3. Grundsubstanz der Hornhaut.

a) Fibrillen, Bündel, Lamellen.

In frischem Zustande erscheint die Grundsubstanz homogen. Der Nachweis, dass sie fibrillär ist, lässt sich auf verschiedene Weise führen:

α) Durch Isolation und Zerzupfen.

Zu diesem Zwecke sind empfohlen: Einlegen der Cornea in übermangansaures Kali, Barytwasser (Rollett), 10 proz. Kochsalzlösung (Schweigger-Seidel), konzentr. wässerige Pikrinsäure, ¼—½ proz. Lösung von Palladiumchlorid (Waldeyer). Ein 12—24 stündiger Aufenthalt in der letzten Flüssigkeit genügt, um beim Zerzupfen auf die leichteste Weise die feinsten Fibrillen mit grosser Deutlichkeit hervortreten zu lassen.

Arnold empfiehlt ein Einlegen der Hornhaut in eine Mischung von:

Jod. pur.	0,5
Kal. jodat.	5,0
Aq. dest.	100,0

Nach 24—48 Stunden kann man beim Frosch die Cornea leicht in Lamellen zerlegen und zerzupfen. Die Hornhautzellen liegen dann als platte Gebilde mit der einen Seite der Lamelle an.

Methode von Pes.

Mit dem Gefriermikrotom hergestellte Schnitte von frischen Hornhäuten werden auf 20—30 Minuten in folgende Färbemischung gelegt:

1	Hämatoxyl. cryst.	0,5 g	9 Teile
	Aq. dest.	100,0 „	
	Acid. carbol. cryst.	2,0 „	
2	Phosphor-Molybdänsäure Merck	2,0 g	1 Teil
	Aq. dest.	20,0 „	

Nach der Färbung werden die Schnitte rasch in Wasser gut gewaschen, in 60 proz. und dann in 90 proz. Alkohol und schliesslich in Kreosot übertragen. Nach einer halben Stunde auf dem Objektträger in einem frischen Tropfen von Kreosot mit Nadeln verzupft. Nach Entfernung des überschüssigen Kreosots in Damarlack eingeschlossen.

Auf diese Weise lassen sich die Präparate mit der grössten Leichtigkeit zerfasern und man sieht ein Netz, das aus Bündeln und isolierten Fibrillen von Bindegewebe besteht. Mit dieser Methode kann man auch den Zusammenhang der Fasern mit den fixen Körperchen oder T o y n b e e schen Zellen erkennen.

β) D u r c h E i n s t i c h i n j e k t i o n.

Man kann nach S c h w e i g g e r - S e i d e l die Cornealfibrillen sehr deutlich hervortreten lassen, wenn man in die frische Hornhaut vermittelst Einstichinjektion ein Gerbsäurelösung von 1 pCt. oder auch dünnen Alkohol unter schwachem Drucke eintreibt.

R a e h l m a n n gibt ein Verfahren an, um durch Sprengung mittels einer Injektionsmasse die Fibrillen direkt von einander zu sondern. Er nimmt dazu ein Gemisch aus Paraffin und Mandelöl und setzt die Bestandteile in dem Verhältnis zusammen, dass die Mischung bei 25—30° flüssig wird. Diese Mischung wird bei Körpertemperatur in völlig flüssigem Zustande mittelst einer feinen Einstichkanüle vom Skleralborde aus in die peripheren Hornhautschichten eines frisch getöteten Tieres injiziert. Die Injektion muss solange fortgesetzt und überhaupt unter einem solchen Drucke ausgeführt werden, bis die Injektionsmasse zum entgegengesetzten Rande der Cornea vorgedrungen ist. Wenn letzteres der Fall, kann man auf eine gelungene Injektion schliessen. Es wird jetzt die Cornea ausgeschnitten, in eine Kältemischung gelegt und kalt geschnitten. Die mit Fett injizierte ausgeschnittene Cornea kann in Alkohol erhärtet werden. Die Schnitte können gleich gefärbt werden, oder es wird das Fett zunächst durch Äther extrahiert und dann werden die Schnitte gefärbt.

H. Virchow empfiehlt interstitielle Injektion der Hornhaut des Rindes mit 1 proz. Chromsäure, Einlegen des Bulbus in 1 proz. Chromsäure (ein bis mehrere Tage), Ausschneiden der Hornhaut, Alkohol, Celloidin, Flachschnitte, Färbung mit Bleu de Lyon.

γ) An Schnitten.

Zu diesem Zwecke trocknet man die Cornea, fertigt dann dünne Rasiermesserschnitte an und lässt dieselben in Wasser wieder aufquellen. Färben mit Pikrokarmin (Ranvier).

Auch die Fibrae arcuatae sind sehr schön an Schnitten durch getrocknete Hornhäute (z. B. Kalb) nach Behandlung derselben mit dünner Essigsäure zu sehen.

b) Suturalfasern. Fixierung der Cornea in 1 proz. Osmiumsäure, 24 Stunden lang, Auswaschen, Färbung 24 Stunden in reinem Pikrokarmin. Lamellieren und Zerzupfen, Zusatz von Glyzerin mit 1 proz. Ameisensäure (oder Zerzupfen der in Osmiumsäure gehärteten Hornhaut auf dem Objektträger, Abspülen, Zusatz von Pikrokarmin, Deckglas, an den Rand einen Tropfen ameisensaures Glyzerin (Ranvier).

c) Elastische Fasern. Die Darstellung derselben mit der Orceïntinction ist mit Schwierigkeiten verknüpft, da das Hornhautparenchym den Farbstoff sehr leicht in toto annimmt und beim Entfärben nur unvollkommen, manchmal kaum wieder abgibt. Besser sind folgende Methoden:

α) Die 3 Silberimprägnierungsmethoden von Tartuferi:

I. Verfahren.

Man legt ein Stück frisches Gewebe in eine Lösung von Natriumhyposulfit von 10—15—30 pCt. und lässt es je nach der Grösse des Stückes und der Struktur des Gewebes 1—7, auch 8 und mehr Tage liegen. Das mit Hyposulfit durchsetzte und gequollene Stück des Gewebes wird 1, 2, 3, auch mehr Tage in einer kleinen Menge dest. Wassers, welche eben hinreicht, um es zu bedecken, liegen gelassen, in welches man Chlorsilber gibt. Die Hornhaut nimmt dann nach kurzer oder längerer Zeit eine Färbung an, welche zwischen schmutzig-gelb und kaffeebraun, nahezu schwarz schwankt. (Die Reaktion wird beschleunigt, gefördert und erhöht im Thermostaten bei einer Temperatur zwischen 26 ° und 36 °. Bei der Erhöhung der Temperatur muss man jedoch sehr vorsichtig verfahren, weil man widrigenfalls Gefahr läuft, eine bereits eingetretene leichte Reaktion zu vernichten, oder aber das Präparat ganz schwarz zu färben; ein solches ist aber unbrauchbar. Die Imprägnation wird um so zarter, je langsamer sie vor sich geht.) Nach erfolgter Reaktion (Schwefelsilber) wäscht man

in dest. Wasser bei einer Temperatur, welche jener des Bades gleich ist, aus. Härtung in Alkohol. Einbetten in Glyzerin oder Damar.

II. Verfahren.

Einlegen des Gewebes in eine Lösung von Hyposulfit von 1—2 pCt. während 1—8 Tagen oder auch länger. Das von Hyposulfit vollgesogene und gequollene Gewebsstück legt man in eine 1 proz. Lösung von Hyposulfit. in welcher man reichlich Chlorsilber aufgelöst hat. Temperatur des Thermostaten 26—36°. Nach eingetretener Reaktion schreitet man zur Waschung und Härtung wie bei dem ersten Verfahren.

III. Verfahren.

1. Fixieren der frischen Cornea (1½—2 Stunden) in 1 proz. Sublimatlösung.

2. Auswaschen mit dest. Wasser.

3. Einlegen in ein Glasgefäss mit breitem Hals und geschliffenem Pfropfen, welches eine 1 proz. Lösung von Natriumhyposulfit, in der man reichlich Chlorsilber aufgelöst hat, enthält. Man fügt ein Stück Kampfer und einen Kristall Thymol bei, um die Schimmelbildung zu verhindern, schliesst das Gefäss gut und legt es in den Thermostat bei einer Temperatur von 20—30°.

Nach ca. 12 Tagen kann die Reaktion beginnen. Die schönsten Reaktionen erhält man, wenn man die Gewebsstücke 3—4 Monate oder noch länger darin lässt.

Den für die Reaktion günstigsten Moment bestimmt man durch mikroskopishe Untersuchung von Probeschnitten. Nimmt die Reaktion zu, so wäscht man

4. das Stück reichlich mit dest. Wasser und lässt es 24 Stunden darin liegen.

5. Verdünnter Alkohol.

6. Alkohol absol., Celloidineinbettung.

Die elastischen Fasern der Hornhaut erscheinen tiefschwarz, die Nerven gelbbraun kaffeefarbig, die Zellkörper der fixen Hornhautzellen erscheinen gelb bis braun, die Zellkerne derselben nahezu schwarz.

Nachträgliche Färbung der Tartuferischen Fasern mit Orceïn (Colombo).

β) Die Weigertsche elastische Faserfärbung.

Kleine ausgeschnittene und am besten mit Formalin fixierte Hornhautstückchen werden durch mehrstündigen (4—6) Aufenthalt in einer konzentrierten Kalilösung zum Quellen gebracht, um ein leichteres Eindringen der Farblösung in die Hornhaut zu ermöglichen.

Nach sorgfältiger Auswaschung in fliessendem Wasser werden die gequollenen Hornhautstückchen entweder in toto gefärbt (ungefähr 8 Tage bei 2 tägiger Erneuerung der Farblösung) oder sofort mittels der Gefriermethode in so dünne Flächenschnitte als möglich zerlegt und die erhaltenen Schnitte auf 24 Stunden in die Weigertsche Farblösung gebracht. Die Differenzierung der Schnitte erfolgt in gewöhnlichem Alkohol oder, wenn dies nicht genügt, in dest. Wasser. Zur Erzielung einer Kontrastfärbung ist eine Nachfärbung mit einer spirituösen Orange-G-Lösung zu empfehlen.

Die in toto gefärbten Stückchen kommen solange in absoluten Alkohol, bis sie keine Farbe mehr abgeben, und können dann ebenfalls entweder der Gefriermethode oder der gewöhnlichen Paraffineinbettung unterworfen werden (Vollaro).

γ) Die Methode von Monesi.

1. Fixation in 5 proz. Sublimatlösung (5—10 Stunden).
2. Waschen in Jodwasser (2—3 Stunden).
3. Waschen in Aq. dest. (kurze Zeit).
4. Behandlung mit 4 proz. Lösung von molybdänsaurem Ammoniak mit Zusatz von einigen Tropfen Salzsäure (12—24 Stunden).
5. Waschen in Aq. dest. (2—3 Stunden).
6. Färbung in toto mit Hämatoxylin Ehrlich (einige Wochen).
7. Alkohol. Celloidineinbettung.
8. Abermalige Färbung mit Hämatoxylin. Entfärbung mit Wasser + einigen Tropfen Salzsäure. Wenn nötig, wird die letztgenannte Färbung und Entfärbung mehrere Male wiederholt.

δ) Die Heldsche Methode (S. 175).

Die Methode α, γ und δ haben vor der Methode β den grossen Vorzug, dass sie ohne Anwendung von Quellungsmitteln gelingen und somit die elastischen Fasern in ihrer natürlichen Lage und Form zur Anschauung bringen. Ein Vorzug der Methode δ ist darin zu erblicken, dass sie als eine vortreffliche Protoplasmafärbung auch das Protoplasma der fixen Hornhautzellen färbt und dadurch über die Beziehungen zwischen den elastischen Fasern und den Hornhautkörperchen Aufschluss erteilt (Seefelder).

d) Saftbahnen. Dieselben lassen sich auf folgende Weise darstellen:

α) durch Einstichinjektion mit Quecksilber, Luft, äther. Extrakt der Arakardiumnüsse oder Alkannin-Terpentinöl, 10 proz. Asphalt-Chloroform, Berliner Blau, Chloroform-Lanolinlösung (1 und 10 proz.) mit Karmin gefärbt.

Die Kanüle wird genau zentral in meridionaler Richtung eingestochen, dann ein wenig zurückgezogen und nun unter möglichst gleichmässigem Druck des Spritzenstempels die Injektionsmasse in die Cornea so lange eingespritzt, bis die ganze Hornhaut und die angrenzenden Teile der Bindehaut gefüllt sind. Dann Ausschneiden der Hornhäute mit der angrenzenden Sklera und Konjunktiva, eventuell Härtung in Alkohol und Zerlegung in Schnitte (Gutmann).

β) Durch Luftdruck.

Man bindet die vordere Hälfte eines Augapfels (vom Rinde) auf ein entsprechend weites Glasrohr, so dass die Cornea frei bleibt und der Öffnung dieses Rohres entspricht. Die Cornea taucht in eine dünne Lösung von schwefelsaurem Eisenoxydul ein; das andere Ende der Glasröhre wird mit einer Luftpumpe in Verbindung gesetzt. Nach ca. 5—6 Minuten Einwirkung des Atmosphärendruckes wird die Cornea in Ferridcyankaliumlösung gebracht, nachdem vorher durch Auftröpfeln letzterer Substanz auf die der Eisenoxydullösung abgewendet gewesenen Seite der Descemet schen Membran konstatiert ist, dass das Eisenoxydul überhaupt durchgedrungen ist. Dann Anfertigung von Schnittpräparaten (Waldeyer).

γ) Durch Untersuchung der frischen Hornhaut in Humor aqueus (s. oben) oder 7,5 proz. Zuckerlösung (Straub). Ferner durch langsame Wasserentziehung mittelst Umschlägen von konzentrierten Zucker- oder Magnesiasulfatlösungen auf in situ befindlichen Leichenaugen (nachher härten, schneiden, färben) (von Recklinghausen).

δ) Durch Imprägnation der Hornhaut mit Argentum nitricum und anderen Metallsalzen.

Anm. Die Struktur der Cornea stellt sich durch Imprägnation mit metallischen Niederschlägen auf zwei verschiedene Arten dar: entweder erhalten wir ein Netz von ungefärbt bleibenden Partien auf dunklem Grunde, oder es treten den vorigen ähnliche, aber dunkle Zeichnungen auf hellem Grunde auf. Erstere Bilder, die auf extracellulären Niederschlägen beruhen, bezeichnet Leber als **negative;** letztere, durch intracelluläre Niederschläge bedingt, als **positive** Bilder. Mittelst Silberlösungen lassen sich von der

Hornhaut sowohl negative, als positive Bilder erhalten. Die Goldmethode liefert fast immer positive, nur ausnahmsweise negative Bilder.

δ_1) Negative Versilberung.

Hierbei kommt es, wie v. Recklinghausen betont hat, darauf an, dass die Hornhäute ihren natürlichen Spannungszustand und den natürlichen Füllungsgrad ihres Saftkanalsystems im Momente der Silbereinwirkung möglichst bewahren. Um gute Präparate zu erhalten, darf man daher niemals ausgeschnittene Hornhäute benutzen, sondern muss stets die ganzen Bulbi — bei kleinen Tieren, z. B. Fröschen, nach Wegnahme der Lider, die Köpfe in toto — in die Silberlösung einlegen. Damit das Silbersalz besser eindringt, muss man das vordere Epithel entfernen. Die schonendste Methode ist die von v. Recklinghausen vorgeschlagene mittelst warmer Wasserdämpfe. Man achte darauf, dass nur das Epithel leicht getrübt wird, und entferne es dann mit einem in Humor aqueus befeuchteten Pinsel. So wie die Substantia propria corneae selbst die leichteste Trübung zeigt, ist die Versilberung mit gutem Erfolg nicht mehr vorzunehmen. Die des Epithels beraubte Hornhaut wird in eine 1 proz. Lösung von Argent. nitricum eingelegt und auf einige Stunden (3—6) ins Dunkle gestellt. Nach Ablauf dieser Zeit wird sie in dest. Wasser übertragen und dem Sonnenlichte ausgesetzt. Ist die Hornhaut nach einigen Minuten dunkelrotbraun geworden, so spült man sie in gewöhnlichem Wasser ab und härtet sie in Alkohol von steigender Konzentration im Dunkeln. Dann Anfertigung von Flächenschnitten mit dem Rasiermesser. Nachträgliche Färbung der Kerne der fixen Hornhautzellen mit Hämatoxylin ist möglich und zu empfehlen.

Man kann bei der Versilberung auch so verfahren, dass man die ganze vordere Fläche der Cornea des kokainisierten Auges (Frosch) energisch mit einem mässig zugespitzten Höllensteinstift überstreicht. Hierbei nimmt die Cornea eine dunkelgraue Farbe an. In 15—20 Minuten ist die Wirkung des salpetersauren Silbers gewöhnlich bis zur Descemet schen Membran, ja sogar über dieselbe hinaus vorgedrungen; dann wird das Tier getötet und die Cornea ausgeschnitten. Legt man jetzt dieselbe auf ca. 24 Stunden in ein nur leicht mit Essigsäure angesäuertes Wasserbad, so ist man imstande, die ganze Hornhaut in Lamellen zu zerspalten, welche eine, höchstens zwei Schichten von Hornhautkörpern enthalten. Zu diesem Zwecke (Stricker) wird die erweichte und gequollene Hornhaut auf einen Objektträger unter das Präparier-

mikroskop gebracht und durch leichtes Schaben mit einer Lanze vom Rande her der Zipfel einer Lamelle aufgehoben. Dieser wird nun mit einer spitzen, gut schliessenden Pinzette erfasst und, indem mit einer gleichen Pinzette die übrige Cornea fixiert wird, in vorsichtigen Zügen die ganze Lamelle abgezogen. Sollte das so entfernte Stück noch mehrere Lamellen enthalten, so legt man dasselbe, um es noch lamellierungsfähiger zu machen, auf kurze Zeit in Essigwasser und wiederholt die eben beschriebene Manipulation so lange, bis man die dünnste Lamelle erhalten hat. Ebenso genügt, wenn die Cornea durch Einwirkung der Essigsäure allzu weich und zerreisslich geworden ist, ein kurzer Aufenthalt in Wasser, um ihr die für die Lamellierung nötige Konsistenz wiederzugeben. Auch in sehr verdünntem Alkohol aufgehobene Hornhäute lassen sich durch wiederholtes Einlegen in Essigwasser wieder lamellierungsfähig machen. Die so versilberten Lamellen werden in Glyzerin eingebettet und für einige Stunden einem nicht zu grellen Tageslicht ausgesetzt. Durch Hämatoxylin können dann noch die Kerne der Hornhautzellen sichtbar gemacht werden. Über nachträgliche Vergoldung s. unter „Hornhautzellen".

Die Methode des Versilberns mit dem Höllensteinstift gibt sicherere Resultate als das Einlegen in die Silberlösung, und ist namentlich für grössere Hornhäute zu empfehlen.

Die Saftlücken und Saftkanälchen erscheinen weiss auf braunem oder gelbbraunem Grunde. (Die an eiweisshaltiger Kittsubstanz reiche Grundsubstanz der Hornhaut bräunt sich unter Bildung von Silberalbuminat durch die Einwirkung des Lichtes, während die mit Flüssigkeit erfüllten Saftbahnen ungefärbt bleiben.)

Anm. 1. Da die Meerestiere, welche an Chlorverbindungen so reich sind, mit salpetersaurem Silberoxyd schwer gefärbt werden, empfiehlt R. Hertwig, die Tiere zuerst in verdünnter Osmiumsäure zu härten, dann in destilliertem Wasser so lange auszuwaschen, bis das Spülwasser nur noch minimale Niederschläge mit Silberlösung gibt. Dann lässt man eine 1 proz. Höllensteinlösung einwirken.

Anm. 2. Von den Modifikationen der Versilberung soll nur folgende erwähnt werden. Nach Gruber behandelt man die Hornhaut eines Frosches in vivo reichlich mit 10 proz. Salzsäure, bis eine weisse Trübung auftritt. Ein reichlicherer Zusatz der Säure bewirkt wieder Aufhellung. Nunmehr wird die Hornhaut, ohne abgewaschen zu werden, mässig mit dem Lapisstift behandelt, dann ausgeschnitten und 1—2 Tage lang der Sonne ausgesetzt. Die Hornhautkörperchen werden schwarzbraun, die Grundsubstanz hellbraun.

δ_2) Negative Bilder mit Turnbulls Blau (Ferridcyaneisen) etc.

Man legt nach Leber die frische Hornhaut eines Frosches einige Minuten in eine ½—1 proz. Lösung eines Eisenoxydulsalzes, entfernt alsdann vorsichtig das Epithel, das in der Regel sich sehr leicht abstreifen lässt, bringt die Hornhaut nach kurzer Zeit in die Flüssigkeit zurück, so dass sie im Ganzen nur ca. 5 Minuten darin gelegen hat; spült sie durch momentanes Eintauchen in Wasser ab und bringt sie sofort in eine 1 proz. Lösung von Ferridcyankalium, wo sie mit der Pinzette so lange hin und her geschwenkt wird, bis sie eine intensive und gleichmässig blaue Färbung angenommen hat, was schon nach wenigen Augenblicken geschieht. Zur Entfernung der überschüssigen Salzlösung spüle man dann kurze Zeit mit Wasser ab.

Es gelingt mit dieser Methode häufig, die Froschhornhaut in ihrer ganzen Dicke zu imprägnieren.

Ein etwas längerer Aufenthalt der Hornhaut in der Eisenoxydullösung schadet nicht viel, wenn er nicht Stunden lang andauert. Je frischer die Hornhäute sind, um so sicherer und besser gelingt die Imprägnation. Nach der Imprägnation kann man die Hornhaut noch sehr leicht mit Karmin, Fuchsin etc. tingieren. Die nachträgliche Anwendung der Goldmethode gelingt aber nicht.

Von einer derartig imprägnierten Froschhornhaut kann man sehr leicht dünne Lamellen abspalten, blos durch vorsichtiges Abschaben mit einem nicht zu scharfen Skalpell.

Ganz dieselben Resultate erhält man durch Fällung einer 2 proz. Lösung von schwefelsaurem Kupferoxydammoniak, welche einen geringen Überschuss von Ammoniak enthält, durch eine 5 proz. Lösung von Kaliumeisencyanür. Es bildet sich braunrotes Ferocyankupfer. Das Verfahren ist mutatis mutandis dasselbe.

Nimmt man schwache Lösungen von Bleizucker (1 pCt.) und schlägt dieselben durch chromsaures Kali (1 pCt.) nieder, so erhält man gelbe Färbungen von Bleichromat. Hier erscheint es besser, das Epithel bis nach der Einwirkung der zweiten Lösung sitzen zu lassen und erst nachträglich zu entfernen, wobei natürlich die Lösungen etwas längere Zeit einwirken müssen.

Dasselbe gilt für Schwefelblei, niedergeschlagen aus Bleizuckerlösung durch Schwefelammonium, was eine bräunlich-

schwarze Färbung liefert. Man verdünnt beide Lösungen so lange, bis sie im Reagenzglase gemischt keinen wirklichen Niederschlag, sondern nur eine dunkle Färbung liefern.

Anm. Hassloch empfiehlt, lamellierte Katzenhornhäute 12 Stunden lang mit einer 10 proz. Milchsäurelösung zu behandeln, dann in einer Lösung von gleichen Teilen schwach milchsäurehaltigem Wasser und $^1/_2$ proz. Goldchloridlösung 2 Stunden lang liegen zu lassen und sie hierauf dem Einfluss des Lichtes auszusetzen. Die Bilder der Hornhautkörperchen sollen vollkommen denjenigen der negativen Silberbilder entsprechen.

Foà konstatierte das Vorhandensein der Saftkanäle dadurch, dass er nach Wegnahme des Epithels chinesische Tuschelösung auf die Oberfläche träufelte und eine Füllung der Saftkanälchen erhielt.

Nach Dogiel kann man auch mit der Methylenblaumethode ein Negativbild der Saftkanäle erhalten. Man entfernt zu diesem Zweck das Endothel oder Epithel der Hornhaut und legt dieselbe auf 15—30 Minuten in eine 4 proz. Methylenblaulösung in physiologischer Kochsalzlösung. Dann kommt das Präparat in eine gesättigte Lösung von pikrinsaurem Ammoniak, in welcher es sorgfältig ausgewaschen auf $^1/_2$ Stunde oder länger liegen gelassen wird, darauf noch einmal in einer frischen Lösung von Pikrinammonium ausgewaschen und in verdünntem Glyzerin, das mit pikrinsaurem Ammoniak gesättigt ist, eingeschlossen wird (cf. Methylenblaumethode S. 124).

ε) durch die Corrosionsmethode (Altmann).

Man injiziert z. B. einen Triton cristatus von der Aorta aus mit Olivenöl. Es gelingt, dasselbe in die Cornea mehr oder weniger hineinzutreiben. Der Bulbus wird dann herausgenommen und in Osmiumsäure (1 proz.) gelegt. Dann schneidet man mit einem Rasiermesser den vorderen Teil des Bulbus mit der Cornea nicht weit hinter dem Irisniveau ab, entfernt die Iris und die anhaftenden Teile der Chorioidea mit der Nadel, macht vom Rande her gegen die Mitte der Cornea einen Einschnitt und breitet diese dann in Glyzerin aus. Das anhaftende Pigment entfernt man durch Aq. Javelli (cf. Kap. XII, Depigmentierung).

Eine zweite Methode besteht in einer Durchtränkung des Gewebes mit einer Mischung von 2 Teilen Olivenöl, einem Teil Alkohol absol. und einem Teil Äther, oder mit einer Mischung von 2 Teilen Ricinusöl und einem Teil Alkohol („Fettimprägnation"). Man legt die frische Cornea eines Frosches in die Olivenölmischung hinein und entfaltet sie hier durch Schütteln. Anfangs trübt sich das Gewebe durch die Einwirkung des Alkohols, dann hellt es sich allmählich wieder auf und wird, nachdem es von allen Bestandteilen der Mischung durchdrungen ist, ziemlich transparent. Nach einem 5—8 tägigem Aufenthalt in der Mischung nimmt man die

Cornea heraus und überträgt sie in Wasser, damit Äther und Alkohol an der Luft nicht verdunsten. Im Wasser wird sie tüchtig geschüttelt; man sieht sie dann bald opak weiss werden, und deutet dieses darauf hin, dass das Öl im Gewebe fixiert ist. Nach einigem Verweilen in Wasser überträgt man die Hornhaut dann für 24 Stunden in Überosmiumsäure (1 proz.) und kann sie dann mit Eau de Javelle korrodieren.

Man tut gut, je nach der Beschaffenheit des letzteren dasselbe mit dem gleichen oder doppelten Volumen Wasser zu verdünnen. Ausser den verästelten Figuren der Cornealkörperchen findet man auch die Intercellularsubstanz des Hornhautepithels isoliert.

Will man dickere Hornhäute als die des Frosches imprägnieren, z. B. die des Rindes, so tut man gut, nachdem man die oberflächlichen Schichten entfernt hat, von der frischen Cornea mit einem scharfen Rasiermesser dünne Scheiben abzutragen und in die Ölmischung zu legen. Die Cornea schneidet sich am besten, wenn man den ganzen Bulbus in der Hand hält.

Die Mischung mit Ricinusöl bietet für die Cornea den Vorteil, dass sie wegen ihres stärkeren Ölgehaltes auch stärkere Füllung der Körperchen bewirkt. Doch gelingt hier die reine Isolation schwerer und muss jedenfalls für die Korrosion das unverdünnte Eau de Javelle und längere Korrosionszeit angewendet werden. (Vergl. auch „Lymphbahnen“ und „Blutbahnen“.)

Will man auf die Korrosion verzichten, so kann man die Cornealkörperchen auch dadurch zur Anschauung bringen, dass man die Hornhaut in ein Gemisch von gleichen Teilen Alkohol und Alkannin bringt. Hat sie hier einige Zeit lang gelegen, so überträgt man sie in Wasser und fertigt Lamellen oder Schnitte an, welche die Cornealkörperchen dunkelrot gefärbt zeigen, während die Grundsubstanz heller ist (Altmann).

Anm. Den „membranösen Typus“ (Ranvier) der Saftkanälchen studiert man am besten beim Menschen, Hund, Meerschweinchen, Ratte. Den „korpuskulären Typus“ (Ranvier) beim Rind, Pferd, Eidechse, Vögel. Die Saftkanälchen der ersten Form lassen sich leichter injizieren als die der zweiten Form. (Schwalbe).

e) Fixe Hornhautzellen.

α) Untersuchung der frischen Hornhaut in der feuchten Kammer (s. S. 162).

β) Isolierung durch Säuren oder Alkalien.

His benutzte zur Isolierung starke Schwefelsäuremischungen. Die Kerne der so isolierten Hornhautzellen lassen sich nach Auswaschen der Säure mit Fuchsinlösung färben (Leber).

Thin empfiehlt die Cornea während einiger Minuten mit einer auf 105°—115° Fahrenheit (40,5—46,2° C.) erwärmten gesättigten Äzkalilösung zu behandeln.

Königstein mazeriert die mit Chlorgold (s. unten) gefärbte Hornhaut des Fisches 24 Stunden lang in einer Mischung, welche aus gleichen Teilen Wasser und Salzsäure, sowie etwas Glyzerin besteht. Die Hornhäute zerfallen dann in ihre einzelnen Elemente, und die gefärbten Hornhautzellen lassen sich isoliert mit ihren feinsten Ausläufern untersuchen.

γ) Behandlung mit Argentum nitricum. (Positive Silberbilder.)

Die positiven Silberbilder gewinnt man aus den S. 177 beschriebenen negativen durch Mazeration der versilberten Hornhaut in salzsäurehaltigem Glyzerin oder durch mehrtägiges Einlegen in destilliertes Wasser (Ranvier). (Es tritt dabei eine Entfärbung der zuvor gebräunten Grundsubstanz und neue Ablagerung körnigen Chlorsilbers im Innern der Hornhautkörperchen auf.)

δ) Chlorgoldmethode (Positive Bilder).

Eine der besten Methoden zur Vergoldung der Hornhaut ist die

δ_1) Methode von Ranvier.

Man presst eine frische Zitrone aus und filtriert den Saft durch Flanell. Die Hornhaut wird dann abgetragen, kommt auf 5 Minuten in den Saft, woselbst sie durchsichtig wird, wird dann kurz in destilliertem Wasser abgespült und kommt dann in eine 1 proz. Goldchloridlösung (15—20 Minuten). Die Hornhaut wird jetzt mit dest. Wasser kurz abgespült und kommt schliesslich in ein mit Essigsäure schwach angesäuertes Wasser (1 Tropfen Eisessig auf 30 ccm Wasser), worin sie 24—48 Stunden im Lichte stehen gelassen wird.

Wenn man anstatt des Essigsäurewassers $^1/_3$ Ameisensäure (Ameisensäure 1, dest. Wasser 2,) nimmt, und dieselbe im Dunkeln einwirken lässt, so ist die Reduktion des Goldes eine vollkommenere, und die Präparate dunkeln nicht so leicht nach.

Nach vollendeter Reduktion wird in Alkohol langsam gehärtet. Solche Hornhäute lassen sich, namentlich beim Frosch, leicht lamellieren.

Anm. Die Zerlegung der Hornhaut in Lamellen soll nach Heitzmann besonders leicht nach Behandlung mit Milchsäure ausgeführt

werden können. Die Hornhaut einer Katze kommt auf 12 Stunden in 10 proz. Milchsäure, dann in mit Essigsäure leicht angesäuerte 1—2 proz. Goldchloridlösung für 2 Stunden im Dunkeln. Dann in Wasser übertragen, in feine Lamellen zerlegen und auf dem Objektträger in reinem Glyzerin dem Licht aussetzen.

δ_2) Methode von Cohnheim.

Ganz frische Objekte kommen in eine ½ proz., mit einer Spur Essigsäure angesäuerte Goldchloridlösung. Nach 1—2 Stunden werden sie mit destilliertem Wasser flüchtig abgespült und bleiben in mit Essigsäure wenig angesäuertem Wasser im Dunkeln stehen (2—3 Tage). Ist die Reduktion vollendet, so muss eine intensiv rote oder violette Färbung sich zeigen.

Zur Beförderung der Reduktion kann man sich auch der Mischung von Bastian und Pritschard bedienen. Dieselbe besteht aus:

Ameisensäure	1,0
Amylalkohol	1,0
Wasser	100,0

δ_3) Methode von Löwit.

Kleine Stücke werden in $^1/_3$ Ameisensäure (Ameisensäure 1, destilliertes Wasser 2) eingelegt, bis sie durchsichtig werden (1 Minute). Sie kommen alsdann in eine kleine Quantität einer 1 proz. Goldchloridlösung, wo sie nach 10—15 Minuten gelb werden. Hierauf gelangen sie wieder in die $^1/_3$ Ameisensäure zurück und verbleiben darin 24 Stunden im Dunkeln und ebenso lange in konzentr. Ameisensäure. Endlich destilliertes Wasser, Glyzerin.

Andere Goldmethoden s. unter „Nerven der Hornhaut".

Goldchloridobjekte, nach vorherigem sorgfältigen Auswaschen, lassen eine Hämatoxylinfärbung zu oder die Tinktion mit Anilinfarben. Solche, welche übermässig verdunkelt sind, können aufgehellt werden durch eine Lösung von:

10 pCt. wässeriger Cyankaliumlösung	5,0
Glyzerin	35,0

Es lässt sich auch das Vergoldungsverfahren mit der Versilberung kombinieren. Rollett unterwirft zu diesem Zwecke die Hornhaut des Frosches zunächst einer Höllensteinlösung von 0,5 pCt., dann einer gleichstarken Goldchloridlösung und überträgt dann nach längerer Zeit in schwach angesäuertes Wasser. Nachdem unter Lichtwirkung die Reduktion erfolgt ist, erscheinen in der dunklen Grundmasse körnig und gelblich die Hornhautzellen.

ε) Einstichinjektion.

Raehlmann machte Einstichinjektionen mit gerbsaurem Eisenoxyd, also gewöhnlicher Schreibtinte. Injiziert man in die peripheren Teile der Cornea unter einem solchen Drucke, dass die Injektionsmasse bis zur Mitte der Membran vordringt, und legt man die injizierte und herausgeschnittene Cornea in verdünnten Alkohol, so färbt sich der nicht injizierte Teil glänzend blauviolett. Die Zeichnung des Gewebes beruht auf einer Art von Imbibitionsfärbung; die Flüssigkeit dringt in den interfibrillären Räumen weiter im Gewebe vor und färbt die zelligen Elemente. Die Hornhautkörperchen, sowie die Wanderzellen färben sich violettschwarz und lassen Protoplasma und Kern so klar hervortreten, dass ihre Deutlichkeit mit der Deutlichkeit der bei der Goldmethode gewonnenen Bilder konkurrieren kann.

ζ) Vitale Methylenblauinjektion.

Bei derselben werden neben den Nervenfasern und Nervenzellen auch viele Cornealzellen gefärbt, wenn man den Bulbus nach erfolgtem Tode eine kurze Zeit in situ lässt, dann die Cornea ausschneidet und in die Fixierungsflüssigkeit (pikrinsaures Ammoniak, cf. „vitale Methylenblaumethode") bringt. Man findet dann einen Teil der Cornealzellen gefärbt, falls bei Lebzeiten der Grundplexus gefärbt war. War dieser ungefärbt geblieben, so bleiben auch alle Zellen farblos (Dogiel, Hosch).

η) Thioninfärbung nach Hertel.

Dieselbe hat den bisher angeführten Methoden gegenüber den Vorteil, dass die Präparate zuerst fixiert werden. Ausserdem ist es nicht, wie bei dem Versilberungs- und Vergoldungsverfahren nötig, das Epithel von der Cornea zu entfernen. Die Methode eignet sich deshalb namentlich für pathologische Präparate (Ulcus corneae): Formolfixierung, Celloidineinbettung, Flächenschnitte der Cornea in Thionin 1,0, Aq. dest. 4,0, Solut. Natr. biborac. concentrat. 1,0. (Vor jedesmaligem Gebrauch frisch zu bereiten.) Die Präparate bleiben in dieser Lösung 3—5 Minuten. Differenzieren in Salmiaklösung und Aq. dest. aa ca. 10 Minuten. Dann Abtrocknen mit Fliesspapier, Entwässern und Aufhellen in Anilinölxylol (1 : 4), sorgfältiges Auswaschen in Xylol, Kanadabalsam.

Anm. „Orthoklone" Formen der Hornhautzellen studiere man am Frosch, Salamander; „Dendroklone" Formen an den Hornhäuten der grösseren Säugetiere und des Menschen. (Fuchs).

4. Hintere Basalmembran.

Eine **Isolierung** der Membran gelingt am leichtesten beim Frosch mit Hülfe einer zwischengeschobenen Starnadel, doch bleibt die Isolierung auch hier eine unvollkommene. Nach Michel und Wagner verfährt man bei der frischen Hornhaut am zweckmässigsten so, dass man zuerst das Epithel abschabt, dann das Gewebe schichtenweise abträgt und hierauf die Descemetsche Membran ringsherum am Hornhautrande abschneidet. Mittels Filtrierpapier wird allenfalls noch vorhandenes Kammerwasser aufgesogen, und der Endothelbelag mit einem Pinsel entfernt. (Die Descemetsche Membran rollt sich isoliert stets nach ihrer dem Innern des Auges zugekehrten Fläche ein.) Leichter kann man die Membran isolieren durch Kochen (Hyrtl), durch Mazeration in 10 proz. Kochsalzlösung (Schweigger-Seidel), durch Selbstmazeration, 2—3 Tage (Ranvier), durch Behandeln mit Osmiumsäure und Härtung in Alkohol (Smirnow).

Der Nachweis des **lamellären Baues** der Membran geschieht auf folgende Weise:

1. Beim Rinde gelingt es, die Descemetsche Membran nach 30 stündigem Kochen in eine grosse Anzahl zarter Lamellen zu zerlegen (Henle).

2. Behandlung mit getrockneten Hornhäuten 24 Stunden lang mit Jodjodkaliumlösung (Tamamscheff).

3. Behandlung mit 10 proz. NaCl-Lösung (Schweigger-Seidel).

4. Behandlung mittelst Goldchlorid und nachher folgender Mazeration in sehr verdünnter Salzsäure (Berger).

5. Behandlung mit Kal. hypermangan. ½—1 pCt. (Rollett).

Färbung mit Boraxkarmin, Pikrokarmin, Hämatoxylin, Osmiumsäure und Safranin, Kresofuchsin, nach der Heldschen Methode. Färbung der elastischen Fasern des Ligamentum pectinatum (Lauber) mit Orceïn oder der Weigertschen Methode.

Die **Endigung** des Descemetschen Membran und das **Ligamentum pectinatum** untersucht man zweckmässig an Pferdeaugen. Man untersucht am besten auf Querschnitten die Gegend, wo das Lig. pectinat. nicht oder wenig pigmentiert ist.

Eine andere Methode der Präparation ist folgende: Man trennt mit einer Diszisionsnadel die Membrana Descemetii von der Hornhaut und setzt diese Trennung auch jenseits des Hornhautfalzes und der Insertion des Ligamentum fort. Dann durch-

schneidet man mit einer feinen scharfen Schere die Irisfortsätze nahe an der Descemeti, löst das Präparat von dem Nachbargewebe und bringt es in viel Glyzerin auf einen Objektträger, das Ligament nach unten gerichtet, derart, dass das ziemlich dicke Präparat vom Deckglase nicht gedrückt wird (Straub).

Von dem Vorhandensein eines **Saftlückensystems** in der Descemetschen Membran kann man sich nach Preis auf folgende Weise überzeugen: Man schneide die Hornhaut eines ganz frischen Tierauges (z. B. Kalb) aus und lege sie, mit der Descemetschen Membran nach oben, auf ein Objektglas. Darauf stelle man das Mikroskop auf die Endothelfläche ein, um sich davon zu überzeugen, dass man noch nichts deutlich sieht. Nachdem man dies konstatiert hat, tropfe man ein Tröpfchen einer 0,75 proz. Kochsalzlösung auf und stelle nun schnell wieder ein. Da sieht man plötzlich ein sehr scharfes Bild. Die Zellen weichen in sehr regelmässiger Weise, durch Fortsätze unter einander in Verbindung bleibend, vom Rande zurück und bilden ein regelrechtes System von je 6—12 Stomata in ihren Interstitien. Nach wenigen Sekunden werden die Stomata wieder kleiner und verschwinden dann ganz. Mitunter gelingt der Versuch erst bei Applikation eines zweiten Tropfens.

Dasselbe Röhrensystem kann man unter anderem auch zur Anschauung bringen durch sukzessive Behandlung der Cornea frischer Augen — am besten, wenn dieselben vorher einem allmählich steigenden Drucke auf die Äquatorialgegend ausgesetzt waren — mit Eisenchloridlösung (1 : 5, Einwirkung 3—5 Minuten) und ganz schwachen Lösungen von gelbem Blutlaugensalz (15—25 Sekunden) (Preiss).

Anm. Es soll an dieser Stelle noch eine Methode angeführt werden, welche vielfach zur Untersuchung von Grenzmembranen, Linsenkapseln, Fasern der Zonula Zinnii etc. angewendet wird, die Kühnesche Verdauungsmethode mit Verwendung des Pankreasfermentes, des Trypsins. Die Trypsinlösung stellt man sich in der Weise her, dass man ein frisches Rinderpankreas im Extraktionsapparat so lange mit Alkohol und Äther behandelt, bis eine weisse, leicht zerreibliche Masse zurückbleibt. Von dieser Masse wird ein Teil in 5—10 Teile 0,5 proz. Salizylsäurelösung 3—4 Stunden lang bei 40 ° C. gebracht und dann filtriert.

Man setzt die zu untersuchenden Stückchen oder Schnitte der Einwirkung dieser Trypsinlösung bei einer Temperatur von 37,5 ° C. im Brütofen aus. Dann werden die Objekte in einem Reagenzglase mit Wasser ordentlich geschüttelt und schliesslich in physiologischer Kochsalzlösung untersucht.

Ist statt der sauren Lösung eine alkalische erwünscht, so neutralisiert man die saure Lösung mit Soda und macht sie dann schwach alkalisch (0,3 pCt.). Damit diese Lösung nicht schimmelt, setzt man von einer alkoholischen 20 proz. Thymollösung soviel hinzu, dass die Mischung 0,5 pCt. Thymol enthält. (Ewald und Kühne).

Um die Verdauung auf dem Objektträger vorzunehmen, kitte man auf demselben einen Glasstreifen an und lege auf denselben das Deckglas, so dass ein keilförmiger Raum entsteht, in dessen Winkel das zu verdauende Objekt gebracht wird. Hier ist es auch starker Vergrösserung zugängig. Den Objektträger stelle man in die feuchte Kammer, deren Boden mit gesättigter Salizylsäurelösung bedeckt ist. (Schirmer).

5. Hornhautendothel.

Man **isoliert** dasselbe durch 10 proz. Kochsalzlösung oder $^1/_3$ Alkohol. Die ganze Zellenschicht löst sich leicht ab (bei den Vögeln), wenn man halb mit Wasser verdünnte Müllersche Flüssigkeit oder eine schwache Silbernitratlösung auf die Cornea (z. B. der Ente) einwirken lässt. Es bedarf dann nur einer Schwenkung der so behandelten Hornhaut in einem Schälchen mit Wasser, um das Endothelhäutchen in toto in Gestalt einer zusammenhängenden Schicht isoliert zu erhalten (Smirnow).

Behandelt man die Cornea mit Osmiumsäure und härtet darauf in 70—90 proz. Alkohol oder legt man die Cornea direkt in Alkohol, so lässt sich die Descemetsche Membran nebst ihrem Endothelbelage mittelst der Pinzette isolieren (Smirnow).

Protoplasmastrukturen. Nuel injizierte zur Untersuchung des Endothels dem frisch getöteten Tiere (Kaninchen oder Vogel) nach Ablaufenlassen des Humor aqueus Ameisensäure (1—2 pCt.) in die vordere Augenkammer. Das Auge wird dann enukleiert und in 1 proz. Osmiumsäure gelegt (3—5 Minuten). Dann kann man die Cornea ausschneiden und sofort oder nach Karminfärbung untersuchen.

Nuel empfiehlt auch, das Auge einige Tage lang in der Hänselschen Flüssigkeit (1 proz. Chromsäure 25,0, konzentr. Pikrinsäurelösung 10,0, Aq. dest. 65,0, Eisessig einige Tropfen) zu fixieren. Vor dem Ausschneiden wird die vordere Fläche der Cornea mit dem Rasiermesser abgetragen, um sie möglichst dünn zu machen. Untersuchung in Glyzerin mit Pikrokarminzusatz. (Nuel und Cornil.)

Zur Darstellung der **Zellgrenzen** kann man sich auch der Versilberungsmethode (Ranvier) bedienen. Übertragung in eine ca. $^1/_2$ proz. wässerige Höllensteinlösung, bis die

Stücke anfangen, undurchsichtig zu werden. Dann Übertragen in reines, destilliertes Wasser oder 2 proz. Essigsäurelösung und dem Sonnenlicht aussetzen, bis die Stücke sich bräunen. Auswaschen in destilliertem Wasser und Untersuchung in Glyzerin oder Härtung in Alkohol von steigender Konzentration. Zur Vermeidung des Nachdunkelns der Präparate wird eine 10 proz. Lösung von unterschwefligsaurem Natron empfohlen, dann gut auswaschen mit destilliertem Wasser. Nachträgliche Färbung der Kerne (Hämatoxylin, Karmin) ist zulässig. Sie wird nach dem Behandeln mit Alkohol eingeschoben.

Die Zellgrenzen werden bei der Versilberung schwarz gefärbt.

Man kann die Zellgrenzen auch mit der Methylenblaumethode (s. dort) darstellen, indem man das Gewebe in eine 4 proz. Methylenblau-Kochsalzlösung bringt (auf einige Minuten). Dann Fixieren mit pikrinsaurem Ammoniak etc. (Dogiel).

„Körbe". Ballowitz empfiehlt, die frisch ausgeschnittenen Hornhäute in eine Mischung aus 5 Teilen Eisessig und 100 Teilen konzentr. wässeriger Sublimatlösung zu legen. Nach 5 bis höchstens 10 Minuten versucht man dann an der Hornhaut in der Flüssigkeit selbst die Epithelhaut mit einem feinen Platinmesserchen abzulösen, wobei die Hornhaut am besten etwas umgekrempt wird. Die Umkrempung kann von vornherein auch in der Weise vorgenommen werden, dass man die Cornea auf eine Fingerkuppe mit der Hinterseite nach aussen aufstülpt und so in die Sublimatlösung eintaucht. Infolge der oberflächlichen Fixierung bewahrt dann die Cornea ihre Form, wenn man sie nach einigen Minuten von der Fingerkuppe abstreift. Von der jetzt konvex vorragenden Hinterfläche lässt sich das Epithel etwas bequemer ablösen. Der Prozess der Umkrempung ist für die Zellen ohne Bedeutung. Länger als angegeben, darf man mit der Ablösung nicht warten, da sonst eine zu starke Erhärtung des Gewebes eintritt, und die Epithelhaut dann der Membr. Descemet. zu fest anhaftet. Hat man den richtigen Zeitpunkt abgepasst, so lockert sich das Epithel als zartes Häutchen leicht, und kann in mehr oder weniger grossen Stücken abgehoben werden, besonders wenn man mit einem feinen Marderpinsel etwas nachhilft.

Die Isolierung des Epithels gelingt leicht bei der Katze, Schaf, Rind, Schwein, Ziege, schlecht beim Kaninchen, Meerschweinchen, Frosch. Leichter bei älteren Tieren als bei ganz jungen.

Nach Härtung in Alkohol können die so gewonnenen Präparate ohne weiteres gefärbt und eingeschlossen werden und liefern Flächenbilder der Zellen von ausgezeichneter Transparenz und prächtiger Klarheit.

Färbung am besten mit Heidenhains Eisenhämatoxylin-Verfahren.

Hassalsche Warzen: Hyalinreaktion.

6. Nerven der Hornhaut.

Zur Darstellung der Hornhautnerven dienen folgende Methoden:

a) Goldmethoden.

Da dieselben sehr launenhaft sind, so ist es natürlich, dass es eine Unmasse von Rezepten gibt, von denen eines wirksamer als das andere sein soll. In erster Linie sind hier die Goldmethoden anzuwenden, die schon bei der Darstellung der „Hornhautzellen" aufgezählt sind, da das Goldchlorid nicht nur ein spezifisches Färbungsmittel für die Cornealnerven, sondern auch für die Cornealzellen ist.

Anstelle des Goldchlorids kann man auch Goldchloridkalium (Hoyer) oder Goldchloridnatrium (Waldeyer) nehmen.

Hoyer empfiehlt zur Darstellung der Nerven der eigentlichen Cornealsubstanz die Cohnheimsche Chlorgoldmethode (cf. S. 183), für den intra-epithelialen Plexus das Hénoque-Kleinsche Verfahren. Letzteres besteht in folgendem: Das frische Auge (Kaninchen) kommt ¾—1 Stunde lang in eine Goldchloridlösung von 0,5 pCt., wird dann dem Lichte ausgesetzt, für 6—10 Stunden zum Auswaschen in destilliertes Wasser. Alsdann ist die ursprünglich strohgelbe Farbe in ein Grau übergegangen. Jetzt bringe man den Bulbus in ein Fläschchen, welches 5—10 ccm einer nahezu gesättigten Lösung von Weinsäure enthält. Das Kolorit ändert sich rasch in ein graues Violett. Nun übertrage man das Fläschchen in eine annähernd gleiche Menge auf 40—50° C. erwärmten Wassers. Es tritt eine lebhafte violettrötliche Färbung ein, welche beim Erkalten des Wassers einem unreinen, aber tiefen braunroten Kolorit weicht. Darauf, einige Stunden lang, folgt endlich neues Auswaschen in destilliertem Wasser.

Diese Methode wurde von Hoyer dadurch modifiziert, dass der nach 16—24 stündigem Aufenthalt in destilliertem Wasser

sich graublau färbenden Hornhaut 1—2 Tropfen einer photographischen Hervorrufungsflüssigkeit, welche Pyrogallussäure enthält, auf ¼—½ Stunde zugesetzt wurde.

Anm. Einen photographischen „Entwickler" kann man sich auf folgende Weise herstellen: 30 g Tannin werden in 100 g Wasser gelöst, nach 1 oder 2 Tagen wird filtriert, zum Filtrat gibt man 30 g Pyrogallussäure, die in 100 ccm Wasser gelöst wird, und dazu noch 350 ccm Wasser, 100 ccm 85 proz. Alkohol und 50 ccm Glyzerin.

Über Lamellierung der Hornhäute nach der Vergoldung etc. vergleiche das unter „Hornhautzellen" Gesagte.

Anm. Von den Säugetieren gewinnt man besonders vom Meerschweinchen leicht gute Präparate. Beim Frosch gelingt die Vergoldung unter allen Umständen am leichtesten und sichersten. Für die Fische stellen sich der Goldbehandlung manche Schwierigkeiten entgegen.

b) Methylenblaumethode.

Hornhautnerven, mit der vitalen Methylenblaumethode dargestellt, sind den Chlorgoldpräparaten vorzuziehen, weil die Grundsubstanz und die Epithelzellen ungefärbt bleiben (die Hornhautzellen werden manchmal gefärbt). Ausserdem zeichnen sich diese Präparate durch grosse Durchsichtigkeit aus.

Bequemer und sicherer zum Erfolge führend ist die Färbung mit Methylenblau auf dem Objektträger. Die in toto ausgeschnittene Cornea wird nach Dogiel auf einen grösseren Objektträger oder in einem Uhrgläschen in einige Tropfen Humor aqueus gebracht, sodann werden 2—3 Tropfen einer $^1/_{16}$ proz. Methylenblaulösung (in physiolog. Kochsalzlösung) auf die konkave Hornhautoberfläche aufgetröpfelt. Der Gang der Nervenfärbung wird von Zeit zu Zeit unter dem Mikroskop mittelst schwacher Objektive bei nach oben gewandter Vorderfläche verfolgt. Um das Austrocknen zu verhüten, setzt man hin und wieder einen Tropfen Farblösung hinzu. Nach ca. 1—1½ Stunden ist eine maximale Nervenfärbung erfolgt. Die Cornea wird dann 18—20 Stunden lang mit prikinsaurem Ammoniak fixiert und dann, mit der Epithelfläche nach oben, in verdünntes Glyzerin eingeschlossen. Nach Ablauf eines Tages ist die Hornhaut gewöhnlich so durchsichtig geworden, dass die darin enthaltenen Nervenendkörperchen selbst mittelst starker Systeme untersucht werden können.

Um Schnittpräparate anzufertigen, ist es erforderlich, das Gewebe zunächst zu fixieren und zu härten. Dogiel empfiehlt als Fixierungsflüssigkeit die Flemmingsche Lösung (1 Vol. verdünnt mit 2—3 Vol. dest. Wasser). Nach mehrstündigem Ein-

wirken dieser Flüssigkeit wird das Präparat ausgewaschen, in steigendem Alkohol gehärtet, geschnitten und mit Pikrokarmin, Hämatoxylin etc. gefärbt.

Will man in Paraffin oder Celloidin einbetten, so fixiere man mit molybdänsaurem Ammoniak (cf. „Methylenblaumethode" S. 124).

Anm. Es gibt noch einige andere Methoden zur Darstellung der Hornhautnerven. So verwandte z. B. v. Thanhoffer die Osmiumsäure, 1 pCt., in welche der ganze Bulbus (Frosch) mit nach abwärts gerichteter Hornhaut für 5—10 Sekunden eingetaucht wurde. Dann Übertragung in eine 1 proz. Silberlösung für 5—10 Minuten im Dunkeln. Hat die Hornhaut eine graubraune Färbung gewonnen, so bringt man sie in Kochsalzlösung oder reines Wasser und exponiert sie dem Sonnenlichte, bis sie nach einigen Minuten ein dunkelkaffeebraunes Kolorit zeigt. Zur Untersuchung dient Glyzerin.

Leber macht darauf aufmerksam, dann man durch Einstichs-Injektionen mit Alkanna-Terpentinöl höchst zierliche Präparate der Hornhautnerven erhalten kann (dieselben verlaufen vielfach in Saftröhren). Die Cornea des Frosches zeigt übrigens ohne Reagentien beim Verweilen in der feuchten Kammer schon ihre epitheliale Nervenausbreitung. (Engelmann).

c) Über die Anwendung der Golgischen Methode cf. S. 114.

B. Pathologische Histologie der Cornea.

Defekte und Erkrankungen des Endothels kann man rasch und sicher zur Darstellung bringen, wenn man auf die Hinterfläche der abgeschnittenen frischen Hornhaut einen Tropfen Methylenblau BB (Grübler) aufträufelt. Die Stellen, an welchen das Endothel fehlt oder nicht normal ist, werden momentan dunkelblau gefärbt, während die normale Hornhauthinterfläche ungefärbt bleibt. Man kann diese anatomische Methylenblaufärbung zur Kontrolle der klinischen Fluorescinfärbung benutzen (Bullot und Lor. v. Hippel).

Arcus senilis, Pinguecula, Flügelfell. Nachweis von Hyalin (s. S. 145). Fuchs empfiehlt zum Nachweis desselben:

1. Die Prüfung des Verhaltens beim Zusatz von Säuren, Alkalien, Äther und Chloroform.

2. Färbung mit Alaunkarmin.

3. Färbung nach Weigert oder Pal. Die kleinsten Schollen färben sich schwarz, die grösseren etwas heller, bräunlich.

4. Färbung mit Weigerts Gentianaviolett: Hyalin färbt sich im Gegensatz zum Amyolid gar nicht oder schwach blau.

5. Färbung mit Lugolscher Lösung: Hyalin gelblich, eine Braunfärbung zeigt den Übergang in Amyloid an.

Bei stark ausgebildetem Greisenbogen Nachweis von Fett, s. Fett S. 139.

Bandförmige Keratitis. Nachweis von Kalkkörnchen, s. Kalk.

Fibrin (bei Durchblutung der Hornhaut, Entzündung), das sich in Form eines Netzwerkes von feinen Fäden oder als kurze, stäbchenförmige, am Ende oft etwas zugespitzte oder ovoide Gebilde ausscheidet, hat nach Leber folgende Eigenschaften: Es ist sehr resistent gegen Essigsäure und Kalilauge, und löst sich nicht in Alkohol und Äther. Hämatoxylin und Karmin färben es nicht. Durch Fuchsin nimmt es zwar eine rote Färbung an, doch lässt sich dieselbe durch Alkohol fast völlig ausziehen. Jod bewirkt eine im Vergleich zur Umgebung kaum merklich stärkere Färbung, die auch durch Schwefelsäure-Zusatz nur wenig verstärkt wird. Dagegen erzeugt Pikrinsäure eine deutliche Gelbfärbung. Besonders schön ist die Rosafärbung durch Eosin. Die Weigertsche Färbung soll nach Fixierung in Alkohol, Müllerscher Flüssigkeit, Flemmingscher Lösung keine guten Resultate geben (Leber, Wagemann, Baumgarten).

Dieselben Reaktionen ergeben auch die Gebilde, die Vossius in einigen Fällen von eigentümlicher grünlicher Verfärbung der Hornhaut gefunden hat und die er für Bruchstücke von hyalin degenerierten Cornealfibrillen hält. Die Fibrinfäden sind sehr resistent, selbst gegen die konzentrierteste Schwefelsäure. Bringt man auf einen derartigen Hornhautschnitt (Gefriermikrotom) einen Tropfen konzentr. Schwefelsäure und bedeckt ihn mit einem Deckglas, so ist derselbe nach ca. 1 Stunde völlig erweicht (Leber), die Fibrinfäden sind aber noch sichtbar. Man legt dann das ganze Präparat (ohne Entfernung des Deckglases) in destilliertes Wasser in eine Siebdose, entfernt so die Schwefelsäure und behandelt am nächsten Tage das Präparat mit Jodjodkaliumlösung. Die früher wegen ihrer Feinheit etwas schwer zu findenden Fibrinflöckchen treten jetzt als braune Fäden in der klaren, homogenen Grundsubstanz auf das deutlichste hervor.

Hornhautnarben. Nachweis von Verhornung, fettig oder kalkig veränderter Stellen. Hyaline Einlagerungen.

Bleinachweis (Epitheldefekte bei gleichzeitiger Einwirkung von Bleipräparaten) geschieht nach Guillery auf folgende Weise:

1. mit Salzsäure. Man bringt den Schnitt vom Mikrotom auf den Objektträger in 96 proz. Alkohol, setzt dann einen Tropfen einer 15 proz. Salzsäure hinzu und beobachtet die Entwicklung von Chlorbleikristallen am offenen Präparate bei schwacher Vergrösserung. Sobald sie sich zeigen, was fast plötzlich erfolgt, wird die Salzsäure sofort mit Alkohol abgespült, weil das Chlorblei sich sonst in dem Überschusse der Salzsäure wieder auflöst. Alsdann wird in üblicher Weise vollständig entwässert, aufgehellt etc. Will man die Schnitte wässern, z. B. um sie zu färben, so setzt man die Salzsäure am besten nach dem Wässern und selbstverständlich vor der Färbung zu. Die Entwässerung ist alsdann vorsichtig mit ganz allmählich steigendem Alkohol vorzunehmen. Nimmt man gleich stärkeren Alkohol, so hat man zu gewärtigen, dass, wahrscheinlich durch die heftigen Diffusionsströme, die Kristalle aus ihrer Lage gebracht, ja sogar vollständig aus dem Präparate herausgerissen werden und im Alkohol schwimmen. Einschliessen in Glyzerin ist nicht möglich, da Chlorblei in Glyzerin sich sehr leicht auflöst.

2. mit Schwefelammonium. Es bildet sich bräunliches Bleisulfid.

3. mit Chromsäure. Es bildet sich intensiv gelbes Bleichromat.

Die Sklera.

Die Sklera und Cornealskleralgrenze untersucht man am besten an Meridionalschnitten, die beliebig gefärbt werden.

Lederhäute, die **Knochen** oder **Kalk** enthalten, müssen entkalkt werden.

Die **Saftkanälchen** lassen sich durch Silberimprägnation leicht darstellen (cf. S. 177). Durch Färbung mit Hämatoxylin lassen sich dann nachträglich noch die **Skleralzellen** innerhalb der Saftlücken deutlich machen.

Elastische Fasern. Darstellung mit den üblichen Färbungsmethoden. Die Sklera zeigt ihnen gegenüber ein höchst launenhaftes Verhalten, besonders gilt dies für die Orceïnfärbung (Sattler, Elschnig, Birch-Hirschfeld).

Zur Darstellung der **Nerven** verwende man die Goldimprägnation, die Golgi-Cajalsche Methode, die Methylenblaumethode und die Färbung mit Osmiumsäure (Einlegen der Sklera in eine $^1/_{10}$ proz. Osmiumsäurelösung je nach der Dicke 24—48 Stunden, dann durchsichtig machen in einer Mischung von Glyzerin und Essigsäure).

Pigmentzellen finden sich reichlich in der Sklera der Pferde, der Rinder, der Meerschweinchen.

Die Zellgrenzen des **Endothelhäutchens** auf der inneren und äusseren Fläche der Sklera lassen sich durch die Silbermethode (cf. 187) deutlich machen.

Den Schlemmschen Venenplexus kann man sowohl von den Venen wie von den Arterien (Art. ophthalmica) aus injizieren. Durch direktes Einsetzen einer feinen Kanüle in das Lumen einer grösseren Vene kann man auch den Ciliarkranz und die vorderen Ciliarvenen injizieren, mit Quecksilber oder gelösten Farbstoffen.

Die Injektion des Venenplexus von der Vorderkammer aus ist nur möglich, wenn man diffusionsfähige Farblösungen nimmt, oder wenn die Farbstoffpartikelchen der Lösung so klein sind, dass sie die Kittlinien der Zellen des Endothelbelags der inneren Wand des Venenplexus passieren können. Als Injektionsmasse dienen: gelöstes Berliner Blau (allein oder mit Säurefuchsin gemischt), Alkannin-Terpentin, Asphalt-Chloroform, indigoschwefelsaures Natron, Eosin, Karmin, Zinnober, japanische Tusche, defibriniertes Blut. Die Injektion wird vorgenommen entweder mit der Pravazschen Spritze oder mit der Waldeyerschen Scheibenkanüle: „Dieselbe hat eine Länge von 53 mm und kann nahe bei ihrem oberen Ende durch einen Hahn abgeschlossen werden; unterhalb des Hahns ist das Rohr platt gehämmert und hat einen Durchmesser von 2,1 mm im Lichten; es endet unten in eine elliptische Scheibe von 4,2 mm Durchmesser. Das obere Ende der Kanüle steckt in einem dünnen Gummischlauche von ca. 3½ mm Durchmesser und 1½ mm Länge. In seinem Anfangsstück ist ein kleiner Glastrichter befestigt. Um die Scheibe der Kanüle in die Vorderkammer einzuführen, macht man mit dem Graefeschen Schmalmesser, wie bei der Saemischschen Spaltung, in der Mitte der Cornea einen transversalen Schnitt von solcher Ausdehnung, dass die Scheibe bequem eingeführt werden kann und bei leichtem Anziehen der Hornhaut in vertikaler Richtung die Wunde schliesst.“ (Guttmann).

Literatur.

Altmann, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 16. 1879. — Arnold, Die Bindehaut der Hornhaut und der Greisenbogen. Heidelberg 1860. — Virchows Arch. Bd. 68. H. 4. — Anat. Anz. Bd. 18. 1900. — Ballowitz, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 56. I. 1900. — Baumgarten, Arch.

f. Ophth. Bd. 29. III. — Berger, Arch. f. Ophth. Bd. 28. III. — Birch-Hirschfeld, Arch. f. Ophth. Bd. 60. 1905. — Böttcher, Virchows Arch. Bd. 58. 1872. — Dorpat. med. Zeitschr. IV. 1872. — Bullot u. Lor, Bull. de l'acad. roy. de Méd. de Belgique. 1899. — Cohnheim, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1866. No. 26. — Virchows Arch. Bd. 34. 1867. — Colombo, Zeitschr. f. wiss. Mikr. XX. H. 3. — Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. 41. 1903. — Dogiel, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 33. 1889. — Bd. 37. 1891. — Elschnig, Arch. f. Ophth. Bd. 61. 1905. — Engelmann, Über die Hornhaut des Auges. Leipzig 1867. — Ewald u. Kühne, Verhandl. d. naturh.-med. Ver. z. Heidelberg. Bd. I. 1876. — Foà, Virchows Arch. Bd. 65. H. 3. — Fuchs, Arch. f. Ophth. Bd. 27. III. — Bd. 37. III. — Bd. 52. 1901. — Gerlach, Das Verhalten d. indigoschwefels. Natr. im Knorpelgewebe lebender Tiere. Habilitationsschr. Erlangen. — Gruber, Verhandl. d. Ges. d. Naturf. 66. Vers. Wien. Bd. II. 1894. — Guillery, Arch. f. Augenheilk. Bd. 56. 1907. — Gutmann, Arch. mikr. Anat. Bd. 32. 1888. — Arch. Ophth. Bd. 41. I. 1895. — Hassloch, Arch. f. Augen- u. Ohrenheilk. VII. 1878. — Heitzmann, Mikroskope. Trenton. Vol. X. 1890. — Journ. de microgr. XIV. 1890. — Henle, Handb. d. system. Anat. S. 606. — Cannst. Jahresber. 1853. S. 26. — Hénocque, Arch. de l'Anat. Physiol. 1870. — Hertel, Arch. f. Ophth. Bd. 53. 1902. — Hertwig, Jen. Zeitschr. f. Nat. Bd. XIV. — v. Hippel, Arch. f. Ophth. Bd. 54. 1902. — Hosch, Pflügers Arch. Bd. 7. 1873. — Arch. f. Ophth. Bd. 37. III. — Hoyer, Arch. f. mikr. Anat. Bd. IX. — Hyrtl, Handb. d. prakt. Zergliederungskunst. S. 403. — Knies, Virchows Arch. Bd. 62. — Königstein, Sitz.-Ber. d. Wiener Akad. Bd. 71. III. 1875. — Kolossow, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 52. 1898. — Kühne, Unters. über d. Protoplasma u. d. Kontraktilität. Leipzig 1864. — Unters. a. d. phys. Inst. Heidelberg. Bd. III. H. 1. 2. — Langerhans, Virchows Arch. Bd. 58. 1873. — Lauber, Anat. Hefte. H. 59. 1901. — Leber, Arch. f. Ophth. Bd. 14. III. 1868. — Bd. 24. I. 1878. — Bd. 35. II. —Entzündung. Leipzig 1891. — Graefe-Sämisch. II. Aufl. Bd. 2. Abt. 2. 1903. — Lenz, Monatsbl. f. Augenheilk. Jahrg. 45. 1907. — Löwit, Wiener Sitz.-Ber. Bd. 71. 1875. — Michel u. Wagner, Arch. f. Ophth. Bd. 32. III. — Monesi, Annali di Ottalm. 37. 1908. — Arch. f. Augenheilk. Bd. 64. 1909. — Nuel u. Cornil, Arch. d'Ophth. Bd. X. 1890. — Arch. de Biologie. Bd. X. Fasc. 2. 1890. — Pes, Arch. f. Augenheilk. Bd. 55. 1906. — Peters, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 33. 1889. — v. Pfungen, Jahrb. d. k. k. Ges. d. Ärzte in Wien. 1872. — Preiss, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1880. — Virchows Arch. Bd. 87. — Raehlmann, Arch. f. Ophth. Bd. 23. I. 1877. — Ranvier, Leçons d'anatomie générale. Paris 1881. — v. Recklinghausen, Die Lymphgefässe und ihre Beziehung zum Bindegewebe. Berlin 1862. — Virchows Arch. Bd. 19. — Bd. 28. — Anat. Anz. 1888. — Rollett, Sitz.-Ber. d. Wiener Akad. Bd. 33. 1859. — Centralbl. f. d. med. Wiss. No. 13. 1871. — Über die Hornhaut. Strickers Handb. von den Geweben. S. 1091. — Rossi, Annali di Ottalm. XVIII. 1889. — Sattler, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 21. 1882. — 1896. — Ber. d. ophth. Ges. Heidelberg 1896. — Schirmer, Arch. f. Ophth. Bd. 35. I. — Schottländer, Arch.

f. mikr. Anat. Bd. 31. 1888. — Schreiber, Arch. f. Ophth. Bd. 58. — M. Schultze, Arch. f. mikr. Anat. Bd. I. 1865. — Schwalbe, Lehrb. d. Anatomie d. Sinnesorgane. 1887. — Schweigger-Seidel, Ber. d. math. phys. Kl. d. Kgl. Sächs. Ges. d. Wiss. 12. XII. 1869. — Seefelder, Arch. f. Ophth. Bd. 73. 1909. — Senftleben, Virchows Arch. Bd. 65. H. 1. — Smirnow, Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Phys. Bd. 7. 1890. — Straub, Arch. f. Ophth. Bd. 33. III. — Arch. f. Anat. u. Phys. (Anat. Abt.). H. 4. 5. 1887. — Stricker, Arch. Augen- u. Ohrenheilk. Bd. V. 1876. — Wiener med. Jahrb. I. 1876. — Stricker u. Norris, Studien aus de Instit. f. exper. Path. in Wien. Bd. I. 1870. — Talma, Arch. f. Ophth. Bd. 18. II. 1872. — Tamamscheff, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1869. No. 23. — Tartuferi, Annali di Ottalm. Bd. 19. 1900. — Arch. f. Ophth. Bd. 56. 1903. — Annali di Ottolm. Bd. 34. 1905. — Ber. d. 31. Vers. d. ophth. Ges. Heidelberg 1903. — Thin, Lancet. Februar 1874. — Vollaro, Annali di Ottalm. Bd. 36. 1907. — Vossius, Arch. f. Ophth. Bd. 27. III. — Bd. 35. II. — Zieglers Beitr. Bd. 4. 5. — Wagemann, Arch. f. Ophth. Bd. 36. 4. — Wadsworth u. Eberth, Virchows Arch. Bd. 51. 1870. — Waldeyer, Mikrosk. Anat. d. Auges. Graefe-Sämisch. I. Aufl. Bd. I. — v. Wittich, Virchows Arch. Bd. 9.

Zwölftes Kapitel.

Uvealtraktus.

Zur möglichst schnellen Fixierung der Iris und Chorioidea eröffne man die Vorderkammer oder den Glaskörperraum, damit die Fixationsflüssigkeit direkt auf die Membranen einwirken kann. Um genügend dünne Schnitte herstellen zu können, muss man den Uvealtraktus von der Sklera loslösen. Hierzu eignet sich das Verfahren der provisorischen Paraffineinbettung (s. S. 61). Die Schichten der Iris, des Ciliarkörpers, der Chorioidea studiert man an Horizontalschnitten. Färbung mit Karmin gibt bei pigmentierten Augen schönere Bilder als Hämatoxylintinktion.

Um den **vorderen Uvealtraktus** mit der Linse zu isolieren, verfährt man nach Czermak folgendermassen: Die gehärteten Bulbi werden im Äquator halbiert und hierauf in ein mit Wachs ausgegossenes Schälchen gebracht, mit Nadeln die Sklera fixiert, und nun unter Wasser präpariert. Nimmt man nämlich die Retina und etwas Glaskörper zwischen eine Pinzette und hält Sklera und Chorioidea mit einer anderen, so gelingt es, durch einen ganz leichten Zug den Glaskörper sukzessiv vollständig rein abzuziehen; blos vor der Ora serrata bleibt eine 1—1,5 mm breite Zone mit Pigment des Orbiculus ciliaris in Form flacher

Bogen haften. Nun fasst man die Chorioidea mit einer Pinzette, geht mit einer Depressionsnadel oder Lanzette zwischen ihr und Sklera ein, trennt, was sehr leicht geht, den Ansatz des Ciliarmuskels an der Sklera und das Ligamentum pectinatum, und erhält so den ganzen vorderen Uvealtraktus mit der Linse.

Zum Studium des **Reliefs** der vorderen Irisfläche kann man sich handliche und dauerhafte Präparate verschaffen, wenn man die Iris in toto, ohne die Pigmentlage zu entfernen, zwischen zwei Objektträgern in Gelatine einbettet (cf. 16). Sehr zu empfehlen ist auch die Betrachtung der Irisoberfläche, der Ciliarfortsätze, der Zonula Zinnii mit dem stereoskopischen Mikroskop (Zeiss). Man legt die Präparate in eine Schale mit Wasser oder Formalinlösung und betrachtet sie bei auffallendem Licht. Auch getrocknete Präparate (cf. S. 13) geben schöne Bilder. Die Konturen treten ebenso plastisch hervor, wie bei der Untersuchung des lebenden Auges mit der Zehender-Westhienschen binokularen Lupe.

Für die ersten Untersuchungen des Reliefs eignet sich (nach Fuchs) die braune Iris besser als die blaue oder graue. Bei letzterer findet man sich infolge der vielen sichtbaren Details anfangs schwer zurecht.

Das **Endothel auf der vorderen Irisfläche** versilbere man auf folgende Weise: Man durchtrennt an einem möglichst frischen Auge die Sklera ringsum hinter dem Ciliarkörper. Dann zieht man den vorderen Teil der Sklera samt der Hornhaut vom Bulbus ab, so dass die Iris vollstandig bloss liegt. Dieselbe wird nun, nach vorherigem Abspülen mit destilliertem Wasser, durch Aufträufeln von 1 proz. Silberlösung gefärbt. Nach leichter Härtung in schwachem Alkohol wird die Iris ringsum von ihrer Insertion abgetrennt und dann die Pigmentlage abgepinselt. Hierauf wird die Iris, nach vollständiger Wasserentziehung, in toto, mit der Vorderfläche nach oben, in Damarlack eingebettet. Man kann zu diesen Präparaten sowohl braune als blaue Irides verwenden (Fuchs).

Die beiden Lagen der **retinalen Pigmentschicht** erkennt man deutlich nur im Auge des Embryo (und zuweilen selbst noch beim neugeborenen Kinde), sowie im albinotischen Auge.

Der Nachweis einer **Dilatator pupillae** ist dadurch erschwert, weil dieser Muskel pigmentiert ist. Man muss deshalb das Augenpigment bleichen (s. Depigmentierungsverfahren). Zur Untersuchung sind wegen der Dicke der Muskelschicht besonders Fisch-

otter- (Dostoiewsky) und Seehundsaugen (Heerfordt) geeignet.

Zum Studium des **Stromazellnetzes** empfiehlt sich die Iris von gewissen Affen, wie Macacus nemestrinus (Herzog).

Mydriaris und **Miosis** post mortem kann man erzeugen, wenn man die frisch enukleierten Augen sofort in warme wässerige 5proz. Atropin- oder Eserinlösung einlegt. Nach eingetretener Wirkung schnelle Fixation in 10proz. Formollösung (Lange). Zur Fixierung des jeweiligen vitalen Kontraktionszustandes empfiehlt sich Einlegen des Bulbus in Flemmingsche Lösung, 24 Stunden bei 40° C. im Brutofen (Heine), oder Injektion von Formol in das Auge (Heerfordt), oder schnelles Einlegen in Formalinalkohol nach vorheriger Eröffnung der Vorderkammer (Richter).

Traubenkörner, beim Pferd, Esel, Rind, Büffel, Schaf, Ziege, Klippschiefer (Hyrax) (Lange).

Den **Ciliarkörper** untersuche man an feinen Schnitten eines mit Karminleim injizierten und gehärteten Auges. Am besten eignen sich albinotische Kaninchenaugen. Pigmentierte Augen müssen entfärbt werden.

Anm. Einen stark entwickelten Ciliarkörper haben die Vögel, namentlich die Raubvögel; wenig entwickelt ist derselbe bei Amphibien und Reptilien.

Zur Untersuchung des **Ciliarmuskels** färbe man mit Pikrokarmin, oder fixiere in Chlorpalladium mit nachfolgender Karminfärbung. Man verfährt dabei nach F. E. Schultze folgendermassen:

1. Halbierung des Augapfels, Auspinseln des Glaskörpers, Eröffnung der hinteren Kapsel und Auslösung der Linse, Anlegung eines mässig grossen Loches in der Cornea.

2. Einlegen dieses Präparates auf 2—3 Tage in eine weingelbe Lösung von Palladiumchlorid. (Herstellung einer Lösung von Chlorpalladium 10: 1000; hierzu 4—5 Tropfen konzentr. Salzsäure. Auflösung in 24 Stunden. Diese dunkelrotbraune Lösung wird auf 1: 800 (weingelb) verdünnt). Das Präparat erhält eine so derbe Konsistenz, dass feine Rasiermesserschnitte möglich sind. Gründliches Auswässern: Protoplasma dunkelgelb, quergestreifte Muskulatur bräunlichgelb, glatte hell strohgelb, Nerven schwarzgrau bis tiefschwarz, Kollagen farblos. Färbung der letzteren mit ammoniakalischem Karmin (mehrere Stunden lang). Celloidineinbettung ist zulässig. Nach Flemming kann man die mit Chlorpalladium

behandelten Muskelfasern hinterher durch eine 12—24 stündige Einwirkung von 30—40 proz. Kalilauge noch isolieren.

Eine vollkommene **Isolierung der Aderhaut** im Zusammenhang mit der Suprachorioidea nach Eröffnung des Bulbus unter Wasser ist nicht möglich. Die Suprachorioidea wird beim Loslösen zerrissen; den einen Teil davon sieht man auf der Aussenfläche der Chorioidea in Form von braun gefärbten Fetzen, die im Wasser flottieren; der andere Teil bleibt an der Sklera haften. Bei dem Loslösen werden nämlich die auf die Chorioidea übertretenden Gefässe und Nerven abgerissen und bleiben, Gewebsfetzen mit sich nehmend, entweder auf der Chorioideal- oder auf der Skleralseite hängen. Leichter gelingt dagegen eine vollständige Loslösung der Suprachorioidea von der eigentlichen Aderhaut, wenigstens im vorderen Abschnitt, nachdem der Bulbus einige Zeit in Müller scher Flüssigkeit gelegen hat.

Beim Zerzupfen des flockigen Gewebes der Suprachorioidea sieht man **Pigmentzellen, elastische Fasernetze** und Kerne der **Endothelmembran.** Die Zellen der Endothelmembran (sowohl auf der Aussenseite der Chorioidea als auf der Innenseite der Sklera) (sogen. Perichorioidealraum) kann man auch durch Behandeln mit Argentum nitricum darstellen. Man nimmt dazu am besten albinotische Kaninchenaugen, pinselt das Retinalepithel ab, zieht die Aderhaut von der Sklera ab, spült ab, taucht sie in 40 proz. Silbernitratlösung, und legt sie mit der Innenfläche auf den Objektträger. Zur Isolierung des Endothelbelages verwendet man am vorteilhaftesten den skleralen Anteil desselben von einer Sklera, die nach der Silberimprägnation einen Tag in verdünnter Glyzerinlösung gelegen hat (Schwalbe).

Um am nicht injizierten Auge die **Gefässe der Chorioidea** darzustellen, lege man den von Fett und Muskeln sorgfältig gereinigten Bulbus auf einen kleinen Glastrichter, den man in eine niedrige Glasflasche gesteckt hat und trage vorsichtig, am Äquator beginnend, mit Schere und Pinzette die ganze Sklera oder nur einen Quadranten desselben vorne bis zur Ora serrata und hinten bis zur Opticuseintrittsstelle ab. Alle festeren, die Sklera mit der Chorioidea verbindenden Gefässe und Nerven müssen abgeschnitten werden; man hüte sich, sie abzureissen. Dann entferne man durch vorsichtiges Streichen mit einem in Wasser getauchten Pinsel die der Chorioidea noch anhaftenden Teile der Lamina suprachorioidea. Hierdurch wird der Verlauf der gröberen Gefässe vollkommen deutlich. Von injizierten

Augen erhält man sehr schöne Präparate, wenn man die Iris im Zusammenhange mit der Chorioidea lospräpariert und ein Flächenpräparat davon herstellt. Damit dasselbe ausgebreitet werden kann, versehe man die Chorioidea mit einigen Einschnitten.

Zur Erhaltung der normalen **strukturellen** und **dimensionalen Verhältnisse** werden in die linke frei präparierte Carotis communis eines Neugeborenen 150 ccm physiologische Kochsalzlösung bei Körpertemperatur injiziert und sogleich etwa 350 ccm mit Wasser aa verdünnte Zenkersche Flüssigkeit modifiziert nach Birch-Hirschfeld (S. 31) unter Blutdruck der ersten Injektion nachgeschickt. Sowohl Venen wie Arterien werden nach der Injektion unterbunden. Nach etwa 1 Stunde Dekapitation. Ausserdem bleibt der Kopf in der unverdünnten, öfters gewechselten Lösung noch eine Woche liegen, wird dann mit Brunnenwasser ausgewaschen und in ganz allmählich steigendem Alkohol (S. 48) gehärtet (Wolfrum).

Basalmembran und **Lamina elastica.** Protoplasmafärbung nach Held (S. 130), Mallorymethode (S. 132), Heidenhains Eisenhämatoxylinfärbung mit folgender Färbung mit Säurerubin (in 96 proz. Alkohol, schwach rote Lösung), Weigertsche Lösung und Nachbehandlung mit Rubin S. (Wolfrum).

Die Glaslamelle ist ohne Anwendung künstlicher Mittel untrennbar mit dem Stroma der Chorioidea verbunden. Lässt man aber auf die Aderhaut konzentrierte Alkalien oder Säuren einwirken, so geht ein Teil des der Glashaut anhängenden Stromas langsam zu Grunde, und es gelingt auf diese Weise, Fetzen derselben zu erhalten (Iwanoff und Arnold).

Legt man die Chorioidea auf längere Zeit in eine 10 proz. Kochsalzlösung, so tritt die faserige Struktur der Glashaut deutlich hervor (Iwanoff).

Die **Drusen der Glaslamelle** sind hyaline Gebilde, denn sie färben sich intensiv mit Eosin, Pikrokarmin, Säurefuchsin. Die Drusen werden weder durch Säuren noch durch Alkalien verändert, und sind weder in Äther, noch in Chloroform lösbar. Auch zeigen sie Amyloidreaktion nicht (Kerschbaumer).

Die **Krystalle des Tapetums** der Raubtiere lassen sich durch Zerzupfen leicht isolieren; sie sind unlöslich in verdünnten Mineralsäuren, in kochendem Wasser, in Alkohol und Äther; löslich dagegen in Kalilauge, konzentrierter Schwefelsäure und Salpeter-

säure. Jod färbt sie gelb, Jod und Schwefelsäure rot, Karmin-Ammoniak nur sehr langsam rot (M. Schultze).

Anm. Nur das „Tapetum cellulosum" der Raubtiere, Robben und Spinnen enthält diese Kristalle; das „Tapetum fibrosum" der Wiederkäuer, Pferde, Elephanten, Cetaceen und Beuteltiere nicht.

Nerven der Iris.

1. Chlorgoldmethode (cf. S. 189). Am besten nehme man Vögel und albinotische Kaninchen. Sonst muss die Pigmentlage an der hinteren Fläche mit physiologischer Kochsalzlösung abgepinselt werden. Pause empfiehlt die Iris 7—12 Stunden nach dem Tode in der mit Essigsäure ganz schwach angesäuerten Goldlösung (5 ‰) auszubreiten und ½ Stunde darin zu lassen. Dann wird das Präparat in mit Essigsäure angesäuertem Wasser der Reduktion durch das Tageslicht ausgesetzt. Die brauchbaren Präparate markieren sich schon dem blossen Auge dadurch, dass sie nicht einen roten, sondern bläulichen Farbenton annehmen. Nach 24—36 Stunden ist die Reduktion beendet. Das Goldchlorid färbt die Nerven, ohne Rücksicht auf ihren Markgehalt, und zugleich auch die Ganglienzellen.

Grünhagen gebrauchte zum Nachweis der Nerven der Ciliarfortsätze des Kaninchens folgende Methode: Einlegen der Iris für 2—3 Stunden in verdünnte Essigsäure (12 Tropfen Essigsäure in 100 ccm Wasser), dann Übertragen in 10 ccm einer ½ proz. Goldchloridlösung für 1 Stunde und schliesslich unter Lichtabschluss für 2—4 Tage in eine verdünnte Ameisensäure (1 :4).

2. Osmiumsäure. Bei der Präparation hat man darauf zu achten, dass das hintere Pigment möglichst gut abgepinselt wird. Hat die Iris in Osmiumsäure gelegen, dann haftet die Pigmentschicht so fest an, dass sie sich selbst mit der Nadel schwer abkratzen lässt. Ferner unterlasse man es nicht, die Membran sorgfältig auszubreiten; bei der Eigenschaft der Osmiumsäure, das Gewebe zur Schrumpfung zu bringen, legt sich das Präparat leicht in Falten, die ein allseitiges Eindringen der Flüssigkeit erschweren. Man verhindert dies am einfachsten, wenn man den ganzen vorderen Bulbusabschnitt in die Lösung bringt. Das Präparat bleibt etwa ½ Stunde lang in einer 1 proz. Lösung von Osmiumsäure im Dunkeln. Dann Auswaschen und Entwässern. Anstatt der Osmiumsäurelösung empfiehlt Gehberg nach 5—6 stündiger Einwirkung einer 1 proz. Essigsäure die Uvea den Dämpfen der Osmiumsäure auszusetzen.

Die Osmiumsäure kann man unmittelbar nach dem Tode des Tieres anwenden; nur die markhaltigen Fasern in der Iris des Menschen scheinen nicht gut frisch auf das Mittel zu reagieren. Ungefähr 6—12 Stunden p. m. scheint die zweckmässigste Zeit zum Einlegen zu sein (P a u s e).

Bei stark pigmentierter Iris kann man nach der Osmiumfärbung das Pigment mit Chlor bleichen. Das in der Markscheide abgelagerte Osmium wird von einer 4—6 stündigen Einwirkung gewöhnlichen Chlorwassers nicht wesentlich angegriffen, während das Pigment sich soweit aufhellt, dass man gröbere Nervenverzweigungen gut verfolgen kann (P a u s e).

A n m. Der Gehalt der Iris an markhaltigen Nervenfasern ist bei den verschiedenen Tierklassen sehr verschieden. Nach P a u s e sind dieselben relativ am zahlreichsten bei der Vogeliris, dann folgen in absteigender Ordnung: Ziege, Schwein, Schaf, Rind, Kaninchen, Mensch.

3. M e t h y l e n b l a u m e t h o d e (cf. S. 121). Bei der Färbung auf dem Objektträger tingieren sich auch in störender Weise die Bindegewebszellen. Für das Corpus ciliare speziell empfiehlt A g a b a b o w eine Methylenblaulösung im Verhältnis 1 : 5000.

A n d o g s k y spritzt in die Vorderkammer frisch enukleierter Augen eine kleine Menge einer $^1/_{20}$ proz. Methylenblaulösung ein. Nach 3—5 Minuten Halbierung des Bulbus im Äquator. Ausbreitung der losgelösten Iris auf dem Objektträger und Zerlegung derselben in 4 Segmente. Aufträufelung der Farbstofflösung, Einstellen in den Thermostaten bei 37°, 10—15 Minuten lang. Fixation nach B e t h e (S. 125).

4. Methode von R a m ó n y C a j a l (cf. S. 117).

Augenpigment.

Das Chorioidealpigment und das retinale Pigment soll der Bequemlichkeit wegen an dieser Stelle zusammen behandelt werden.

Die Pigmentmembran der Retina lässt sich niemals im Ganzen abziehen, sondern stets gelingt es nur, besonders leicht etwas länger nach dem Tode, sie in Fetzen zu isolieren. Trennt man die Aderhaut und die Netzhaut von einander, so bleibt die Pigmentmembran fast immer auf der ersteren haften.

Bei Kindern ist die Pigmentmembran dicker und kräftiger entwickelt. Auf der Rückseite der Iris ist sie meist so stark, dass sie sich durch Mazeration als ganze Membran isolieren lässt. Dazu genügt einfaches Liegenlassen in M ü l l e r scher Flüssigkeit.

Das Pigment blättert sich dann ab und kann bis auf wenige Reste weggepinselt werden.

Anm. In der kindlichen Iris kommt bis auf einige von der Pigmentlamelle ausgehenden Pigmentballen kein Pigment vor. (Merkel und Orr). Ely hat auch bei Negerkindern blaue Augen gefunden. Auch in der kindlichen Chorioidea findet sich nur wenig Pigment in der Umgebung des Sehnerven. Nach Rieke tritt das Pigment in der Aderhaut frühestens im 7. Fötalmonat auf, oft aber sehr viel später.

Um die **Pigmentkörnchen** des **Pigmentepithels** zu studieren, entferne man vorsichtig die Netzhaut, und pinsele das Pigmentepithel mit einem in physiologischer Kochsalzlösung angefeuchteten Pinsel ab. Untersuchung mit Ölimmersion.

Flächenpräparate und Querschnitte fertige man an, indem man den Bulbus einige Zeit in Müller sche Flüssigkeit legt und dann die Pigmentmembran abzieht.

Zur Untersuchung des **Chorioidealpigments** zerzupfe man die Chorioidea, oder löse sie ab, nachdem sie einige Zeit in Müller-scher Flüssigkeit gelegen hat. Nach Aufhellung in verdünnter Essigsäure kann man sie dann zu Flächenpräparaten benutzen.

Zur **Reindarstellung des Augenpigmentes** unterwarf Mays die Augen von einigen hundert Hühnern, welche durch Äquatorialschnitt zerspalten, mit Alkohol und Äther vollständig erschöpft und unter Äther aufbewahrt waren, der Pankreasverdauung (cf. S. 186). Das Pigment wurde dann durch Gaze abfiltriert, einige Male mit Wasser abgewaschen, und zur Entfernung der Nukleine verdünnte Natronlauge angewendet.

Darstellung der pigmentierten und unpigmentierten Pigmentzellen gelingt sehr schön durch die von Levaditi und Bertarelli für die Spirochäten angegebenen Silberimprägnationsmethoden (Schreiber und Schneider). Die Methode eignet sich auch zum Studium der Melanosarkome und Leukosarkome.

1. Fixation der sehr kleinen Stücke in Alkohol.

2. 6—8 tägiger (bei frischen Objekten, bei älteren 10—12-tägigen) Verbleib[1]) der Stücke in:

Arg. nitr.	1,5 g
dest. Wasser	50 ccm
Alkohol 96 pCt.	50 „
reine Essigsäure	4—5 Tropfen.

[1]) Für die Untersuchung auf Spirochäten genügt 4 tägiger Verbleib.

Die Flüssigkeit muss erneuert werden, sobald sich Niederschlag bildet.

3. Mehrfach sorgsames Auswaschen in dest. Wasser.

4. 48 stündiger Verbleib[1]) auf Zimmertemperatur im Reduktor Van Ermengems:

Tannin	3,0 g
Gallussäure	5,0 „
Essigs. Natrium	10,0 „
dest. Wasser	350,0 „

Erforderlichenfalls wechselt man den Reduktor, wenn dieser trübe wird.

5. Sorgsames Auswaschen in dest. Wasser.

6. Alkohol., Chloroform-, Paraffin. Schnitte von 0,3—0,7 μ.

Schon aus der gelben Farbe der Schnitte lässt sich leicht ersehen, ob die Imprägnation und die darauf folgende Reduktion gut ausgefallen ist.

Anm. Rotes und orangerotes Pigment findet sich bei Tiefseetieren, ferner in den Stirnaugen mancher Wanzen (Syromastes, Acanthosoma), im Stirnauge von Machilis (Thysanure).

Entfärbungsmittel für Augenpigmente. Da uns das dunkle Augenpigment in vielen Fällen den Einblick in die Struktur des Objektes verwehrt, so ist es nötig, dasselbe ohne Zerstörung der Gewebsstruktur zu entfernen.

Das Pigment der Chorioidea und des Ciliarkörpers entfärbt sich leichter als das der Iris, und in dieser wieder das der vorderen Pigmentschicht leichter als das der hinteren (Müller).

Folgende Entfärbungsmittel kommen in Betracht:

1. Das Chlor. Man verwendet es in drei Formen:

a) als Chlorwasser. Dieses bleicht ziemlich langsam. Es muss täglich gewechselt werden.

b) als Javellauge (Eau de Javel):

Natr. carbon.	
Calcar. chlorat. āā.	12,5
Aq. dest.	100,0

Bei dicken Schnitten nehme man die unverdünnte Lauge und lasse sie 10—30 Minuten lang einwirken. Namentlich zu empfehlen für injizierte (mit Schellack) Augen. Bei dünneren Schnitten muss die Lösung mit $^1/_2$—1 Volumen Wasser verdünnt werden. Werden die Schnitte gut aus-

[1]) Für die Spirochäten genügt 24 stündiger Verbleib. (Schreiber u. Schneider, Eine Methode zur Darstellung von Pigmenten und ihrer farblosen Vorstufen mit besonderer Berücksichtigung des Augen- und Hautpigmentes. Münch. med. Wochenschr. 1908. No. 37. S. 1918).

gewaschen (24 Stunden), so können dieselben nach den gebräuchlichen Methoden weiter behandelt werden. Bei dieser Bearbeitung wird das Celloidin nicht nur nicht zerstört, sondern soll auch dem Gewebe eine merkwürdige Widerstandsfähigkeit gegen diese ätzende Flüssigkeit verleihen. (Bellarminow).

c) als Chlordampf. Man bringt die Objekte in ein mit Alkohol gefülltes Glas, auf dessen Boden sich Kristalle von Kali chloricum befinden. Es wird nun Salzsäure (bis 1 pCt.) hinzugefügt und das Glas gut verschlossen. Wie bei allen Bleichungsprozessen mit Chlor ist auch hier eine genaue Überwachung nötig. (Das naszierende Chlor kann man auch als Bleichungsmittel für zu dunkel gewordene Osmiumsäurepräparate verwenden. [P. Mayer.]) Schwächer wirkt der Dampf des einfachen Chlorwassers. Mit Wasser aufgeklebte Paraffinschnitte werden diesem Dampf ausgesetzt, indem man den Objektträger umgekehrt auf die Öffnung des Gefässes mit dem Chlorwasser legt. Darauf Entparaffinierung. Die Färbbarkeit des Gewebes wird zwar vermindert, bleibt aber in der Regel stark genug erhalten. (P. Mayer).

d) Die Griffithsche Entfärbungsmethode besteht in folgendem: Fixation in Müllerscher Flüssigkeit. Herausschneiden des zu depigmentierenden Stückes. Auswaschen 24 Stunden. Entfärben in Kal. chlor. 1,0. konzentr. Salzsäure 2,0, Aq. dest. 300,0 (schneller wirkt nach Gabriélidès Kal. chlor. 1,0, Salzsäure 3,0, Aq. dest. 150,0). Die Mischung muss von Zeit zu Zeit aufgeschüttelt werden und im Dunkeln stehen (24 Stunden). Auswaschen in fliessendem Wasser (24 Stunden), Alkohol 50 pCt., 70 pCt., 90 pCt. (3 Tage). Fliessendes Wasser (24 Stunden). Eintauchen in Gummi und Schneiden mit dem Gefriermikrotom. Entfernen des Gummis aus den Schnitten durch Wasser und Färben in wässeriger Eosinlösung ($^1/_2$ Stunde). Dest. Wasser. Differenzieren in 5 proz. Salzsäure (einen Augenblick). Auswaschen in dest. Wasser. Nachfärben in Ehrlichs Hämatoxylin. Entwässern in Alkohol. Aufhellung durch Nelkenöl, dem eine Spur Eosin zugesetzt ist. Kanadabalsam.

Sind die Schnitte überfärbt, so Behandlung derselben mit absol. Alkohol längere Zeit. Statt des Hämatoxylins kann man auch Safranin benutzen. Die Entfärbung kann auch an den Schnitten vorgenommen werden. (Jules und Gabriélidès).

2. Das Wasserstoffsuperoxyd (in dunkler Flasche aufzubewahren). Dasselbe ist ein vorzügliches und schonendes Bleichungsmittel, namentlich wenn man es im Dunkeln einwirken lässt. Es bleicht dann allerdings nur sehr langsam. Schnitte von Augen, die mit Karmin oder Berlinerblau injiziert sind, müssen tage- bis wochenlang in der unverdünnten Lösung liegen bleiben, bis das Pigment genügend entfärbt ist. Dabei werden die Präparate aber gar nicht angegriffen, und der injizierte Farbstoff hält sich vorzüglich. Viel schneller, aber weniger schonend erfolgt die Bleichung, wenn man die Präparate dem direkten Sonnenlicht aussetzt, wie es Müller vorgeschlagen hat. In 2—3 Tagen sind dann die Präparate gewöhnlich entfärbt, die Injektionsmasse leidet aber oft darunter. Nach der Bleichung bringt man die Schnitte in Alkohol. Hierin dürfen sie aber nicht zu lange bleiben, weil sie sonst brüchig werden und bei

der nachfolgenden Färbung und Bearbeitung zerfallen. Man bearbeite sie deshalb sofort weiter bis zur Einbettung in Kanadabalsam.

3. Fick empfiehlt als Entfärbungsmittel eine gesättigte Lösung von Kaliumbichromat mit Zusatz von einem Dritteile verdünnter Schwefelsäure. In kalter Lösung Dauer der Entfärbung ¾ Stunden, in erwärmter binnen wenigen Minuten.

4. Methode von Alfieri. Dieselbe lehnt sich an die bekannte Entfärbungsmethode bei der Palschen Markscheidenfärbung an, gibt gute Resultate und ist sehr zu empfehlen. Celloidinschnitte kommen in eine Lösung von Kal. hypermangan. 1: 2000, 8—24 Stunden, je nach ihrem Pigmentreichtum, womöglich in direktem Sonnenlicht. Die ganz braun gewordenen Schnitte verlieren ihre Färbung vollkommen in höchstens einigen Stunden in einer Oxalsäurelösung von 1: 300, werden dann in Wasser wiederholt abgewaschen und können nun beliebig (Delafieldsches Hämatoxylin, Heidenhainsche oder Bendasche Eisenhämatoxylinlösung) gefärbt werden. Die Struktur der Gewebe bleibt durch diese Behandlung unberührt; nur die Färbung geht etwas langsamer von statten. Auch zeigen die Schnitte manchmal eine gewisse Brüchigkeit, weshalb sie nicht allzu dünn angefertigt werden dürfen (Grunert).

Das Pigment der Wiederkäuer-Iris (Rind, Schaf, Ziege) ist besonders schwierig zu entfernen. Schnitte von der Iris dieser Tiere müssen wenigstens 36 Stunden in der Lösung von Kal. hyperm. verbleiben. Es ist übrigens vorteilhafter für die Schnitte, wenn sie länger in der Lösung von Kal. hypermangan verbleiben, sie brauchen dann nur kurze Zeit (wenige Minuten) in der Oxalsäure zu liegen und werden nicht so spröde (Klinge).

a) Modifikation von Verhoeff und Fischer: Zur Anwendung gelangen hierbei Lösungen von stärkerer Konzentration.

α) gesättigte wässerige Kaliumpermanganatlösung von 1: 16. Die Lösung muss in der Hitze vor sich gehen, vor dem Gebrauch aber wieder abgekühlt werden. Sie hält sich wochenlang in dunkler Flasche aufbewahrt.

β) Ebenfalls in der Hitze gesättigte Lösung von Oxalsäure (5 pCt.). Auch diese muss vor dem Gebrauch abgekühlt werden.

Die am besten in Zenker oder Formalin fixierten und in Celloidin eingebetteten Schnitte kommen aus Wasser für 20 Minuten, in Lösung α. Darauf nach gründlichem Auswaschen in Lösung β, bis die braune Farbe verschwunden ist; meist genügen dazu 5 Minuten. Kontrolle in Wassereinschluss an der Pars ciliar. retinae, ob alles Pigment gebleicht, wenn nicht, nochmalige kurze Wiederholung des Vorganges. Blutpigment wird nicht angegriffen. Man kann auch gleichzeitig am selben Schnitt eine Eisenreaktion anstellen (Berlinerblau), am besten vor der Bleichung. Die Methode lässt eine schöne Kernfärbung zu. Weigerts Fibrinfärbung misslingt.

b) Modifikation von Herzog. Zur Abkürzung des Prozesses setzt man der Oxalsäurelösung in demselben Verhältnis Kal. oder Natr. sulfurosum hinzu.

Die Methode lässt sich auch auf Paraffinschnitte anwenden, die mit Eiweissglyzerin aufgeklebt sind. Nur empfiehlt es sich, die Lösungen bedeutend zu verdünnen, die Kal. permang.-Lösung auf $^1/_5$, die Sol. acid. oxal. und Natr. sulfuros auf $^1/_{10}$. Kontrolle unter dem Mikroskop! Bei beginnender Mazeration und nach ungenügender Bleichung die Lösung noch weiter verdünnen! Muss das Arbeiten unterbrochen werden, so empfiehlt es sich, die Objektträger mit den aufgeklebten Schnitten in eine Mischung von Aq. dest., Glyzerin und Alkohol $\overline{aa}$ hineinzustellen.

5. Methode von Exner und Januschke. Die Schnitte werden zuerst in Kaliumhypermanganat oxydiert, dann in naszierender, schwefliger Säure, welche durch Einwirkung von einer 1 proz. Oxalsäurelösung auf eine 1 proz. Lösung von Natriumsulfit zu gleichen Teilen erhalten wird, depigmentiert (Lederer).

6. Müller benutzt den bei der Elektrolyse des Wassers frei werdenden Sauerstoff zur Bleichung des Pigmentes. An den negativen Pol eines zur Elektrolyse geeigneten Stromes kommt der Streifen aus Platinblech, an den positiven Pol wird ein flaches Säckchen aus Platindrahtgeflecht angeschlossen; dieses Säckchen taucht in eine Porzellanschale mit Wasser, dem Kochsalzlösung zugefügt ist; in das Säckchen kommen die von Alkohol befreiten Schnitte, die sehr bald vollständig depigmentiert sind. Lässt man die Schnitte zu lange in dem Sauerstoff, dann zerfallen sie.

Über Depigmentierung des Arthropodenauges s. S. 41 ff.

Anm. Das fetthaltige Pigment in der Vogeliris schwindet nach Behandlung mit Äther, das guaninhaltige nicht. Beide kommen nebeneinander vor. (Leydig).

Literatur.

Agababow, Intern. Monatsschr. f. Anat. u. Phys. Bd. 14. 1897. — Alfieri, Annali di Ottalm. Bd. 27. 1898. — Monitore zool. ital. VIII. — Andogsky, Arch. f. Augenheilk. Bd. 34. — Bellarminow, Anat. Anz. Jahrg. 3. 1888. — Bertarelli u. Volpino, Centralbl. f. Bakt. Bd. 41. 1906. — Czermak, Arch. f. Ophth. Bd. 31. I. — Dostoiewsky, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 28. 1886. — Fick, Centralbl. f. Physiol. H. 19. 1895. — Fuchs, Arch. f. Ophth. Bd. 31. III. — Gabriélidès, Arch. d'Ophth. 1895. — Gehberg, Intern. Monatsschrift f. Anat. u. Hist. 1. H. 1884. — Griffith, cf. Jules u. Gabriélidès — Grünhagen, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 22. 1883. — Grunert Arch. f. Augenheilk. Bd. 36. — Heerfordt, Anat. Hefte. Abt. I. Arb. a. anat. Inst. H. 46. (Bd. 14. H. 3). 1900. — Anat. Hefte Abt. I. H. 49. (Bd. 15. H. 3). 1900. — Heine, Arch. f. Opht. Bd. 45. III. 1898. — Herzog, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 60. 1902. — Encycl. d.

mikr. Techn. Art.: Auge. 1910. — Iwanoff, Tunica vasculosa. Strickers Handb. d. Lehre von d. Geweben. — Iwanoff u. Arnold, Graefe-Sämisch. I. Aufl. Bd. I. — Jules, Transact. of the VIII, Intern. ophth. Congr. Edinburg 1894. — Kerschbaumer, Arch. f. Ophth. Bd. 38. I. — Klinge, Anat. Hefte. H. 110. (Bd. 36. H. 3). 1908. — Lange, Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. 1901. — Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 1909. II. — Lederer, Centralbl. f. Phys. Bd. 22. 1908. — Levaditi, Compt. Rend. de la Soc. de Biol. Bd. 59. — Leydig, Verhandl. d. phys. med. Ges. z. Würzburg, N. F. Bd. 22. No. 9. 1888. — P. Mayer, Mitt. zool. Stat. Neapel. Bd. 2. 1881. — Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 24. 1907. — Mays, Unters. a. d. Heidelberger physiol. Inst. II. 1878. — Merkel, Makrosk. Anat. d. Auges. Graefe-Sämisch. Bd. I. — Muskulatur d. menschl. Iris. Gratulationsschr. Rostock. — Merkel u. Orr, Anat. Hefte. Bd. I. 1892. — L. Müller, Wiener klin. Wochenschr. 1895. No. 4. — Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. 40. II. — Pause, Arch. f. Ophth. Bd. 22. III. — Richter, Arch. f. Ophth. Bd. 70. 1909. — Rieke, Arch. f. Ophth. Bd. 37. I. — Scherl, Arch. f. Ophth. Bd. 39. II. — Schreiber u. Schneider, Münch. med. Wochenschr. 1908. No. 37. — F. E. Schultze, Arch. f. mikr. Anat. 1867. — M. Schultze, Sitz.-Ber. d. niederrhein. Ges. f. Natur- u. Heilk. Nachtr. z. Ber. über d. Sitz. v. 27. XI. 1871. — Schwalbe, Ber. d. Sächs. Ges. f. Wiss. 1872. — Verhoeff u. Fischer, Arch. d'Ophth. Bd. 37. 1908. — Arch. f. Augenheilk. Bd. 64. 1909. — Wolfrum, Arch. f. Ophth. Bd. 67. 1908.

Dreizehntes Kapitel.

Die Retina.

Eröffnet man ein belichtetes, menschliches Auge unmittelbar nach der Enukleation, so gibt die Retina ihre Anwesehenheit nur durch die in ihr enthaltenen Blutgefässe, die frei über der Pigmentmembran zu schweben scheinen, und durch die braunrote Farbe der Macula lutea kund. Sie selbst ist, namentlich an der Ora serrata, so durchsichtig, dass man sie so gut wie garnicht sieht. Sehr bald nach dem Tode aber fängt die Netzhaut an sich zu trüben. Sie wird zuerst weniger durchscheinend und schliesslich so opak, dass die unterliegende Pigmentmembran nicht mehr zu sehen ist. Die Macula lutea nimmt dann eine strohgelbe Farbe an.

Am längsten hält sich die Pars ciliaris durchsichtig, was sowohl von ihrer geringen Mächtigkeit, als auch von dem Fehlen der so vergänglichen und gerinnungsfähigen Nervenelemente herrührt.

Ganz besonders wenig resistent gegen die Einflüsse der Verwesung zeigt sich die Macula lutea. Wenn die übrige Netz-

haut noch völlig intakt erscheint, so treten hier schon die als Plicae centrales bekannten Falten auf. Diese Falten sind auch bei Neugeborenen als Leichenerscheinung anzusprechen. (Dickmann). Sie scheinen allerdings an keinem Auge ganz zu fehlen, auch wenn dasselbe möglichst frisch in die beste Fixierungsflüssigkeit kommt. Sie werden um so ausgeprägter, je später das Auge in die Flüssigkeit kommt. Auch im Affenauge habe ich dieselben gefunden. Auch das anstelle der Fovea entstehende Foramen centrale verdankt seine Entstehung der raschen Zerstörung der Netzhaut.

Sehr kurze Zeit nach dem Tode oder durch Behandlung mit den meisten scheinbar indifferenten Flüssigkeiten, namentlich aber mit Wasser, beginnen die Aussenglieder der Stäbchen und noch leichter die der Zapfen zerstört zu werden. Sie lösen sich von den Innengliedern, schwimmen frei in der Zusatzflüssigkeit, biegen sich, bekommen knotige Anschwellungen, hirtenstabförmige Krümmungen an ihrem Ende, lassen Myelin ähnliche Tropfen austreten und rollen sich auch wohl kreisförmig zusammen. An Netzhäuten von Tieren mit grösseren Stäbchen kann man den Zerfall derselben in kreisrunde Plättchen deutlich beobachten, die leicht auseinander fallen (Krause).

Je mehr Zeit nach dem Tode verstreicht, um so geringer wird die Konsistenz der Netzhaut. Schliesslich zerfliesst dieselbe ganz von selbst. Lässt man dieselbe dabei in Wasser liegen, so entwickelt sich ein Geruch nach Trimethylamin, der um so stärker wird, je länger die Lösung steht. Es bildet sich ein Zersetzungsprodukt des in der Netzhaut vorhandenen Cholins (Michel und Wagner).

Um diese so wenig resistente Membran in ihrem wunderbaren Aufbau kennen zu lernen, muss man sie natürlich möglichst frisch untersuchen (schon 1½ bis Stunden post mortem kann man deutliche Veränderungen an den Ganglienzellen nachweisen), und muss sie vorsichtig aus dem Augapfel zu isolieren trachten. Ein Durchschnitt durch den ganzen Bulbus gibt uns wohl ein Übersichtsbild über die verschiedenen die Retina zusammensetzende Elemente, reicht aber zur Untersuchung feinerer Details keineswegs aus.

A. Normale Histologie.

1. Allgemeines.

a) Zur Ablösung der **frischen Netzhaut** (für Flächenpräparate, Beobachtung des Mosaiks der Stäbchen und Zapfen, Isolierung

der Nervenfaserschicht, Golgi- und Methylenblaupräparate etc.) verfahren wir folgendermassen: Der Augapfel wird im Niveau des Ciliarkörpers mittels Rasiermessers und Schere vorsichtig in zwei Hälften zerschnitten. Aus der hinteren Hälfte entfernt man dann unter physiologischer Kochsalzlösung in schonendster Weise den Glaskörper so weit als möglich und zerlegt diesen Abschnitt mittels einer Schere in meridionaler Richtung in 3—4 Segmente, von denen ein jedes einen Teil der Retina ihrer ganzen Länge nach von der Ora serrata bis zur Eintrittsstelle des Opticus enthält.

Will man die Retina gänzlich unversehrt erhalten, was wegen der festen Verbindung derselben mit dem Sehnerven seine Schwierigkeit hat, so schneidet man, bevor man den Bulbus eröffnet, mit einer gegen die Fläche gebogenen Augenschere den Sehnerven möglichst tief bis in die Chorioidea heraus. Die Schere ist dabei mit ihrer konvexen Seite sanft gegen den Bulbus zu drücken. Schwieriger ist es, am geöffneten Auge die Anheftung der Netzhaut an den N. opticus zu lösen, indem man mit der gekrümmten Schere den Opticus an der Durchtrittsstelle durch die Sklera durchschneidet. Kommt es auf ein kleines Loch an der Stelle des Sehnerveneintrittes nicht an, so kann man in sehr bequemer Weise die ganze Retina dadurch loslösen, dass man mit Hülfe eines kleinen Locheisens von der Retinalseite aus den Opticuseintritt herausdrückt.

Bei dem Abpräparieren der Netzhaut des Frosches haben wir noch auf einen Umstand zu achten, auf den Boll und Kühne zuerst aufmerksam gemacht haben. Diese Forscher haben bekanntlich gefunden, dass das in der Stäbchenschicht des Frosches verteilte Retinalpigment nicht ortsbeständig ist, sondern wandert und sich je nach den verschiedenen **Beleuchtungsverhältnissen** der Retina ganz verschieden verhält. Dadurch gestaltet sich die Präparation der Retina unter den verschiedenen physiologischen Verhältnissen durchaus verschieden. Bei Augen, die einige Zeit lang, vor Licht geschützt, im Dunkeln aufbewahrt waren, löst sich die Retina stets leicht als eine kontinuierliche Membran rein von dem retinalen Pigment ab und zeigt sich bei der mikroskopischen Untersuchung fast völlig pigmentfrei. Noch viel mehr ist dies der Fall, wenn die Retina im roten Licht verweilt hat, weniger, wenn im gelben.

Dagegen geht bei der durch das Tageslicht oder durch grünes, blaues und violettes Licht entfärbten Retina die Präparation lange nicht so glatt vonstatten. Die Retina zerreisst gewöhnlich in mehrere Fetzen, denen dann grössere oder geringere Mengen

retinalen Pigmentes untrennbar anzuhaften pflegen. Bei der mikroskopischen Untersuchung an gehärteten Augen zeigt sich dann, dass bei Dunkelfröschen die Zwischenräume zwischen den Stäbchen völlig pigmentfrei sind, während bei Lichtfröschen dagegen dichte braune Pigmentschnüre bis an die Basis der Stäbchen und der Membrana limitans externa heranreichen.

Bei Säugetieren und Vögeln sind diese auffälligen Erscheinungen des Haftens und Loslassens der Epithelschicht nicht zu bemerken. Nur an der Macula lutea ist die Pigmentmembran inniger mit der Netzhaut verbunden, und die Ausläufer der Pigmentzellen reissen lieber von den Kuppen desselben ab, als dass sie zwischen den Aussengliedern der Sehzellen herausgleiten.

Gegebenen Falles werden wir also vor der Präparation der Retina das Tier einige Zeit (¼—½ Stunde) ins Dunkle setzen und die Augen in der Dunkelheit, resp. bei künstllcher Beleuchtung (cf. Sehpurpur) enukleiren.

Hat man die Retina auf die eine oder die andere Weise vorsichtig abgelöst, so bringe man Stückchen davon mit der chorioidealen Seite auf ein Deckgläschen und lege dieses auf einen hohlgeschliffenen Objektträger, eventuell mit Zusatz von etwas Glaskörper.

Bei dem Betrachten der Retina von der Chorioidealseite aus zum Studium der Stäbchen und Zapfen müssen wir daran denken, dass die Zapfenquerschnitte in dem Falle nicht sicher erkannt werden können, wenn die Aussenglieder der Stäbchen relativ stark entwickelt resp. sehr lang sind, wie dieses z. B. bei den nächtlichen Tieren der Fall ist, namentlich bei der Eule, Maus und dem Aal (Krause).

Um die Retina für diese Untersuchungsmethode etwas resistenter zu machen, kann man sie auch kurze Zeit (etwa zehn Minuten) mit einer fixierenden Flüssigkeit, etwa Formol (10 pCt.) oder Osmiumsaure (½ pCt.) behandeln. Eine derartig behandelte Vogelnetzhaut z. B. hält sich in der feuchten Kammer des hohlgeschliffenen Objektträgers 2—3 Tage ohne wesentliche Veränderung und gestattet auf bequeme Weise das Studium der farbigen Ölkugeln.

b) Wenn es darauf ankommt, Formelemente, namentlich Stäbchen und Zapfen isoliert zu untersuchen, so müssen wir uns der **Mazerationsmethoden** mit nachfolgendem Zerzupfen bedienen. Als Mazerationsflüssigkeiten kommen folgende in Betracht:

α) Osmiumsäure ¼—½ pCt. mit nachheriger Mazeration in Wasser. Hierin werden die einzelnen Bestandteile der Retina weniger brüchig als unter Anwendung stärkerer Lösungen und lassen sich so leichter isolieren; sie quellen aber darin sehr leicht und werden körnig. Namentlich geeignet zum Studium der Innenglieder (M. Schultze).

Nach Ranvier lässt man das Auge eines Triton 24 Stunden lang in der 1 proz. Osmiumsäurelösung, halbiert es dann am Äquator und mazeriert es 2—3 Tage in Wasser; dann schneidet man ein Stückchen Retina heraus, zerzupft es auf dem Objektträger in einem Tropfen Wasser, färbt die so isolierten Elemente mit Pikrokarmin und bewahrt sie in Glyzerin auf. Auf diese Weise gelingt es, die Struktur der Stäbchen und Zapfen, die meist von den Zellen getrennt frei schwimmen, deutlich zu erkennen.

Nach Kuhnt verwende man eine ¾ proz. Osmiumsäure (20—28 Stunden), mazeriere dann 14 Tage lang mit Wasser, das nach der ersten Woche zu wechseln ist, und übertrage dann die Netzhaut auf 3—4 Wochen in ein Gemisch aus Wasser 80,0, Alkohol 12,0, Glyzerin 8,0.

β) ⅓ Alkohol. (28,0 Alkohol absol., 72,0 Wasser.)

γ) Jodserum (nach M. Schulze): Amniosflüssigkeit bis zur Sättigung mit Jod oder mit wenigen Tropfen Jodtinktur versetzt. (Ein Gewichtsteil Jod löst sich in 7000 Wasser.)

δ) Ammoniummolybdänat 5 pCt. Dieses ist dem Jodserum wegen seiner schwachen Lichtbrechung und Unzersetzbarkeit vorzuziehen (Krause).

ε) Chloralhydrat 10 pCt., von Krause, als ein vorzügliches Mittel, das in mancher Beziehung die Osmiumsäure übertrifft, empfohlen zur Konservierung der Aussenglieder der Retinastäbchen, der Radialfasern und Ganglienzellenfortsätze, zur Darstellung der netzförmigen Struktur der Stäbchen- und Zapfen-Ellipsoide, der Kernkörperchen in den sonst quergestreiften Stäbchenkörnern. Einwirkung 3 Tage oder länger.

ζ) Chromsäurelösung $^1/_{10}$ pCt. Einwirkung tage- bis wochenlang.

η) Oxalsäurelösung 1:22.

ϑ) Pikrinsäurelösung. 5—10 Tropfen der kalt gesättigten wässerigen Lösung werden mit 15 ccm dest. Wasser verdünnt.

ι) Schwefelsäure 0,6 pCt.

x) Die Schiefferdeckersche Methylmixtur:

Aq. dest.	20,0
Glyzerin	10,0
Methylalkohol	1,0

Das ausgeschnittene Auge oder die Retina allein wird mehrere Tage in dieser Flüssigkeit gelassen, dann ein Stückchen Netzhaut herausgenommen und in wenig Wasser in einem Reagenzglas geschüttelt. Ist die Retina richtig erweicht, so zerfällt sie mässig leicht in ihre Bestandteile. Ist dieser Zerfall eingetreten, so wird das Reagenzglas in ein Uhrschälchen entleert, und in dieses noch einige Tropfen von Glyzerin und von einer kalt gesättigten wässerigen Lösung von pikrokarminsaurem Natron hineingetan. Dann wird alles zur besseren Mischung mit einer Nadel durchgerührt und das Uhrschälchen in einen Schwefelsäure-Trocken-Apparat gestellt. Hier dunstet dann bald das Wasser ab, und die isolierten Retinaelemente bleiben schön gefärbt in rotem Glyzerin liegen und können darin beliebig lange Zeit aufbewahrt werden.

c) Zum Zwecke des topographischen Studiums der Netzhaut eignen sich am besten die **Querschnitte.** Es kommt hierbei vor allem darauf an, die Netzhautelemente gut zu fixieren. Es genügt nicht, den Bulbus einfach in die Fixierungsflüssigkeit zu legen, dann sind die zarten Retinalgebilde gewöhnlich schon zerstört, bevor noch die Fixierungsflüssigkeit zu ihnen gedrungen ist, die Netzhaut legt sich in Falten, oder es kommt auch vor, dass der ganze Bulbus an einer Stelle nach innen eingeknickt wird. Um dieses zu vermeiden, spritzt man entweder etwas von der Fixierungsflüssigkeit mittelst der Pravazschen Spritze in den Glaskörper (cf. S. 26) oder man halbiert das Auge durch einen Frontalschnitt, entfernt den Glaskörper aus der hinteren Hälfte durch leichten, gleichmässigen Druck von der Mitte aus, füllt die nunmehr hohle Halbkugel mit der Fixierungsflüssigkeit aus, und legt sie dann vorsichtig in das die gleiche Fixierungsflüssigkeit enthaltende Gefäss. Bei Tieren, die einen flüssigeren Glaskörper haben (Pferd), löst sich beim Entfernen desselben die Netzhaut fast stets an einer Stelle vom Untergrunde los; um dieses zu vermeiden, setzt man einen kleinen Trichter auf die Papille auf und verdrängt den Glaskörper durch gleichmässig rasches Zugiessen der Fixierungsflüssigkeit (Zürn). Bei Embryonen und neugeborenen Tieren (Katze) ist eine Eröffnung des Bulbus

meistens nicht nötig; die Fixierungsflüssigkeit dringt schnell genug durch die noch zarte Sklera hindurch (Abelsdorff).

Als Fixierungsmittel für die Retina der Vertebraten sind zu empfehlen namentlich: das Formol, die Salpetersäure, die Flemmingsche Lösung, das Sublimat und die Pikrinsäure. Bei Wirbellosen kann die Salpetersäure nicht angewendet werden, weil sie das Pigment auflöst.

Zur Entfernung des dichten Pigmentmantels der Netzhaut der Evertebraten dienen die S. 41 f. und 204 angeführten Methoden.

Die fixierte Retina wird, wie gewöhnlich, ausgewaschen und sehr langsam gehärtet. In Alkohol von 45—50 pCt. schneidet man am besten das Netzhautstück, das man studieren will, heraus. Will man z. B. die Area centralis der Haussäugetiere untersuchen, so trennt man den unteren äusseren Quadranten einschliesslich der Papille vom übrigen Augenhintergrunde ab, durchschneidet mittels schmalen Messers den Sehnerv zwischen Ader- und Netzhaut und schneidet aus der Netzhaut einen horizontalen Streifen bis nahe zur Ora serrata, wobei man sich beim Pferd, Rind und Schwein als Richtungslinie die schon makroskopisch sichtbare streifenförmige Area Chievitz nimmt.

(Bringt man die ganze hintere Augenhälfte in höhere Alkoholkonzentrationen, so lässt sich die Retina meist nur unter erheblicher Verletzung der Sehzellenschicht von der Chorioidea abheben; präpariert man Ader- und Netzhaut im Zusammenhange von der Sklera ab, so rollen sich beide Häute beim Überführen in Vorharz und Paraffin zusammen, so dass das Schneiden von Bändern unmöglich wird, und bettet man schliesslich alle 3 Häute in Paraffin ein, so springt das Messer an der Sklera aus) (Zürn).

Die abpräparierten Netzhautstücke werden allmählich in Alkohol absol. gebracht, dann Chloroform-Paraffin und Einbettung in Paraffin von niederem Schmelzpunkt (52—55°). Über doppelte Paraffineinbettung s. S. 61.

Will man die in mancher Hinsicht bedenklich erscheinende Behandlung mit den vielen Chemikalien vermeiden, so schneide man entweder die ganz frische Retina mit dem Rasiermesser (S. 20), oder man zerhacke die in 3—3,5 proz. Salpetersäure fixierten Netzhäute nach M. Schultzes Vorgange in wenig Flüssigkeit auf dem Objektträger mit einem scharfen Rasiermesser (S. 20). Die Schnitte werden in reinem Glyzerin untersucht und lassen sich darin gut konservieren. Die Methode hat den Nachteil, dass man nur kurze Schnitzelchen bekommt, und dass man

sich der Färbungen dabei nicht bedienen kann (van Genderen Stort, Altmann).

Bei der Anfertigung von Querschnitten durch die Retina achte man darauf, dass dieselben genau senkrecht zur Ebene der Retina stehen. Man erkennt dies leicht an dem Verlauf der radialen Stützfasern, der in seiner ganzen Länge zu überblicken sein muss. An etwas schrägen Schnitten sieht man nur kürzere Abschnitte dieser Fasern, wenn erstere hinlänglich fein sind. Wenn man unzweideutige Einblicke in den Bau dieser feinen Membran erhalten will, ist es durchaus erforderlich, sich auf solche Schnitte zu beschränken, die nur eine einzige Lage von Retina-Elementen, z. B. von Stäbchenkörnern enthalten. Da dieselben etwa 0,005 mm dick sind, so sollen die Querschnitte nicht mehr als 5 μ Dicke haben (Krause). Derartig feine Schnitte sind nur mit Paraffineinbettung herzustellen.

d) Zum Studium der Netzhaut bedürfen wir ausser den Querschnitten auch noch der **Flächenschnitte.** Dieselben sind unentbehrlich speziell zur Aufklärung des Baues der Zwischenkörnerschicht. Um das Retinastückchen bei der Paraffineinbettung möglichst horizontal zu stellen, verfahre man nach Krause folgendermassen: Man schmelze auf einen in der Mikrotomklammer eingeklemmten Kork ein Paraffinstückchen an und schneide es mit dem Mikrotommesser glatt und eben, darauf schmilzt man ein mehrfach zusammengelegtes Stanniolblättchen mit Paraffin durch einen erwärmten Spatel fest. Darauf kommt das mit Paraffin durchtränkte Retinastückchen und auf letzteres ein ebenfalls etwa vierfach zusammengefaltetes Stanniolblättchen von ähnlicher Grösse zu liegen. Es wird mittels Paraffin und Spatel auf der Retina festgeschmolzen und auf die letztere sanft angedrückt. Nach dem Erkalten wird zuerst das letztere Stanniolblättchen durch das Mikrotommesser selbst entfernt.

Um Flächenschnitte von Präparaten, die in Celloidin eingebettet sind, herzustellen, verfahre man nach Koster auf folgende Weise: In dem Objekthalter des Mikrotoms wird ein Stück guten Korkes festgeschraubt und seine Oberfläche mit dem Mikrotommesser glatt geschnitten; dann wird das zu untersuchende Stückchen Netzhaut, welches mit dünnem Celloidin durchtränkt ist, auf die mit Äther benetzte Fläche des Korkes gelegt und mit einigen Tropfen dicker Celloidinlösung übergossen. Die weitere Behandlung ist dieselbe wie für Einbettung anderer Präparate, nur wird die ganze Objektklammer mit dem Stück

Kork in Alkohol 70 pCt. gelegt, um das Celloidin zu härten. Wird nachher die Klammer wieder an ihre Stelle gebracht, so liegt die Fläche der Schnittführung des Messers, das inzwischen natürlich nicht entfernt werden darf, parallel der Netzhaut.

Bei allen Flächenschnitten der Netzhaut ist wohl zu beachten, dass es teils wegen der Kugelgestalt der Retina, teils wegen geringer Biegungen der eingeschlossenen Retina, teils infolge ungenauer Einstellung der Schnittebene des Mikrotoms unmöglich ist, nur in einer einzigen Schicht der Retina zu bleiben. Ein Flächenschnitt durch ein nur 5qmm grosses Retinastückchen wird noch sämtliche Schichten der Retina treffen. Die Schnitte müssen natürlich bei der in maximo nur 0,4 mm, gewöhnlich und bei Säugetieren meist nur 0,2 mm dicken Membran möglichst dünn ausfallen (K r a u s e).

Zur **Färbung der Retina** verwende man α) Hämatoxylin-Eosin, — Orange oder — Säurefuchsin, Alaunkarmin-Pikrinsäure, die Färbung nach v a n G i e s o n, Eisenhämatoxylin v a n G i e s o n, das E h r l i c h - B i o n d i sche Dreifarbgemisch.

Die Kernfarbstoffe färben die Kerne der Ganglienzellen, die Körnerschichten und die Innenglieder der Stäbchen und Zapfen, namentlich das Ellipsoid. Die sauren Protoplasmafarbstoffe (Orange, Rubin etc.) färben die Aussenglieder und die übrigen Elemente der Netzhaut. In den Ganglienzellen findet sich vorwiegend oxyphiles Chromatin, d. h. solches, welches sich mit sauren Farbstoffen färbt, daneben aber auch basophiles.

β) Zur Untersuchung der G a n g l i e n z e l l e n und n e r v ö s e n K ö r n e r dienen die Methoden nach N i s s l (S. 107), H e l d (S. 130) oder R o s i n (S. 110).

Die körnige Zellstruktur zeigt sich sehr schön in der Kaninchen- und Katzennetzhaut (B a c h).

B i r c h - H i r s c h f e l d empfiehlt: Fixation im B i r c h - H i r s c h f e l d schen Gemisch (S. 31). Paraffineinbettung. Schnitte von 1 μ. Aufkleben. Färbung 10 Minuten in 1 proz. Thioninlösung; kurzes Abspülen mit Aq. dest. Schnelles Übergiessen mit Erythrosinlösung nach H e l d (1: 150,0 und einige Tropfen Acid. acet.) und Abspülen mit Aq. dest. Kurze Entwässerung. Xylol. Kontrolle der Färbung — an dem Verhalten des Zellkernes der Körnerschichten zu prüfen — nochmals Xylol, Balsam.

γ) Zur Untersuchung der N e u r o f i b r i l l e n und A c h s e n z y l i n d e r dienen die S. 103—107 angeführten Methoden.

δ) Für die M a r k s c h e i d e n f ä r b u n g vgl. S. 99—103. Die Anwendung der W e i g e r t 'schen Färbung für die Retina

ist nach Lennox und Flesch folgende: Fixation in Müller'scher Flüssigkeit, Nachbehandlung mit Alkohol, Celloidineinschluss. Die Schnitte kommen etwa 24 Stunden in ½ bis 1 proz. Chromsäurelösung, werden dann abgespült und kommen in die Weigert'sche Hämatoxylinlösung entweder 2 Stunden lang im Wärmeschrank bei 40° C. oder längere Zeit bei gewöhnlicher Zimmertemperatur. Schnitte, die mehrere Tage bei Zimmertemperatur in der Hämatoxylinlösung liegen, färben sich entschieden weniger intensiv, als solche, die nur kurze Zeit einer Wärme von 40° C. ausgesetzt werden.

Man entfärbt dann die Schnitte mit der Weigert schen Borax-Ferrizyankaliumlösung, bis sie im allgemeinen gelblich erscheinen. Eine halbe Stunde genügt gewöhnlich. Dann gut abspülen in Wasser. Alkohol, Xylol, Balsam. Die Nerven der Nervenfaserschicht treten als dunkle Fäden hervor. Die Aussenglieder erhalten eine tiefblauschwarze Färbung.

ε) Zur Darstellung der Müller'schen Fasern und der Neuroglia der Netzhaut dienen ausser der Färbung mit Säurefuchsin (Ehrlich-Biondi'sches Dreifarbgemisch mit vorhergehender Sublimatfixierung) und der Held'schen Protoplasmafärbung die S. 110—114 angeführten Methoden. Über ihre Anwendungsweise auf die Netzhaut ist zu bemerken:

Methode von Golgi. Unter gewissen Bedingungen kann man eine ganz besonders vollständige Färbung der Neuroglia erhalten, während alle übrigen Elemente ganz ungefärbt bleiben. Man schneidet 1—1½ cm grosse Stückchen der Retina zusammen mit den übrigen Augenhäuten heraus und bringt sie auf 3—4 Tage in die Osmium-Bichromatmischung. Am zweiten Tage wird die Sklera und Chorioidea sorgfältig von der Retina abgelöst. Nach Ablauf dieser Zeit abspülen in einer 0,25 proz. Silbernitratlösung und einlegen in eine 0,75 proz. Silbernitratlösung 2—3 Tage lang. Dann entwässern der Retina (½—1 Stunde) in Alkohol und Einschluss in Celloidin (Dogiel).

Methode von Weigert. Verfasser verfährt folgendermassen: Die Bulbi werden nach den oben auseinandergesetzten Regeln fixiert und zwar in der von Weigert angegebenen Fixierungsflüssigkeit (cf. S. 111). Sie bleiben ca. 8 Tage darin auf dem Wärmeofen stehen, dann kurz abspülen und härten in Alkohol von steigender Konzentration. Herauspräparieren der Netzhaut, Einbetten in Celloidin. Schneiden 15—20 μ. Die Schnitte kommen auf 10 Minuten in eine ⅓ proz. Lösung von Kali hypermangan.,

werden kurz abgespült und kommen in eine ganz frische Lösung von Chromogen (5 pCt.) 9,0, Ameisensäure (5 pCt.) 9,0, Natruimsulfit (10 pCt.) 2,0. Hierin werden sie in wenigen Minuten entfärbt. Ein stundenlanges Liegenlassen in der Flüssigkeit ist überflüssig, schadet aber nicht. Nach kurzem Abspülen überträgt man die Schnitte mit einem Spatel auf den Objektträger, entfernt hier vorsichtig mittels 2 Präpariernadeln das anhaftende Celloidin und trocknet die Schnitte mit mehrfach zusammengelegtem Filtrierpapier ab. Dann giesst man auf dieselben einige Tropfen der Methylviolett-Oxalsäurelösung und trocknet dann nach wenigen Minuten wieder ab. Jetzt werden auf die blau gefärbten Schnitte mittelst einer Pipette einige Tropfen der Jodkaliumlösung gebracht (die Schnitte lösen sich dabei vom Objektträger und werden braunschwarz) und diese sofort mittelst Filtrierpapier abgetrocknet. Sie kleben jetzt wieder fest und werden mit Anilinöl-Xylol übergossen, und die Entfärbung unter dem Mikroskop kontrolliert. Treten die blau gefärbten Neurogliafasern deutlich hervor, so sistiere man die Entfärbung, indem man Xylol auf den Objektträger giesst. Zur gründlichen Entfernung des Anilinöls kommt dann der ganze Objektträger eine Zeit lang in eine Schale mit Xylol. Schliesslich Kanadabalsam.

Methode von Wolters. Wolters hat zur Färbung der Marksubstanz und der Achsenzylinder sowie auch der Nervenelemente und der Müller'schen Fasern der Retina drei Methoden angegeben, von denen sich folgende nach Dogiel als die beste erweist: Die Retina wird in Müller'scher Flüssigkeit fixiert, sorgfältig ausgewaschen, in Spiritus gehärtet und in Celloidin eingeschlossen. Die Schnitte kommen 24 Stunden lang in eine 8 proz. Lösung von Aluminium acetum liquidum oder in ein Gemisch von 2 Teilen Vanadium chlor. (10 pCt.) und 8 Teilen von Aluminium acetum liquidum (8 pCt.). Nach 24 Stunden abspülen in Wasser und einlegen in eine 2 proz. Kultschitzky'sche Hämatoxylinlösung 24 Stunden bei 38° C.. dann Differenzierung nach Weigert (cf. S. 100). Bei der Entfärbung der Präparate kontrolliere man dieselben sorgfältig unter dem Mikroskop, da eine zulang dauernde Einwirkung der Differenzierungsflüssigkeit zu einer fast vollständigen Entfärbung führt. Die Müller'schen Fasern nehmen dabei eine fast schwarze Farbe an. Die Kerne derselben färben sich hell- oder dunkelbraun. Die Membrana limitans externa tritt sehr deutlich als schwarze Linie hervor. Ausserdem erscheinen die Kerne aller Zellelemente der Retina dunkelbraun oder schwarz, während die Zellkörper und ihre Fortsätze eine hellbraune Farbe annehmen. Die Aussenglieder der Stäbchen und Zapfen, die Stäbchen- und Zapfen-Ellipsoide und Füsschen mit ihren kegelförmigen Anschwellungen färben sich gleich den Kernen dunkelbraun oder schwarz.

ζ) Über die Anwendungsweise der **Golgi-Cajal'schen Methode**

(S. 114) auf die Netzhaut ist noch folgendes zu bemerken. Je zarter eine Netzhaut ist, desto ungünstiger ist sie für diese Methode. Bei Tieren mit dicken Netzhäuten, z. B. Lacerta virilis (nicht Lacerta agilis, die eine sehr zarte Retina hat) gelingt die Imprägnierung verhältnismässig leicht. Von Säugern ist das Auge des albinotischen Kaninchens für die ersten Versuche zu empfehlen. Man halbiert das Auge in der Frontalebene, entfernt den Glaskörper und löst die Retina ab. Man kann jetzt die Netzhaut schonend zu einem kleinen zylindrischen Klümpchen zusammenrollen und auf eine Sekunde in eine dünne Celloidinlösung eintauchen, damit das Stück durch eine feine Celloidinrinde an der Wiederausbreitung in den Lösungen gehindert werde. Anstatt die Retina zusammenzurollen, kann man sie noch zweckmässiger auf ein Streichholz oder einen Pinsel oder am allerbesten auf ein dünnes Hollundermarkstückchen aufrollen.

Der Überzug mit Celloidin soll auch die Bildung von oberflächlichen Niederschlägen verhindern, hat aber den grossen Nachteil, dass er die an und für sich schon schwierige Imprägnation mit dem Chromsilber noch mehr erschwert. Anstatt mit Celloidin kann man auch die Netzhaut mit einer dünnen Schicht von 10 pCt. Gelatine auf der Glaskörperseite überziehen. (Diese muss aber vor dem Einbetten und Schneiden durch Eintauchen in warmes Wasser, das mit doppeltchromsauren Silber gesättigt ist, wieder entfernt werden. (S e h r w a l d.)) Das Zusammenrollen oder Aufwickeln hat noch den Vorteil, dass man in der Regel an einem Stück sowohl senkrechte wie auch schiefe Durchschnitte und auch Flächenbilder der Netzhaut erhält. Bei den Netzhäuten sehr grosser Tiere (Ochs, Pferd) wickele man nicht die ganze Netzhaut auf, sondern zerschneide sie vorher in mehrere Segmente.

Die kleine Rolle kommt dann in das G o l g i ' sche Gemisch und wird nach den für diese Methode gültigen Regeln weiter behandelt. Namentlich die doppelte Methode ist zu empfehlen.

1. Einlegen der Netzhaut in d. G o l g i ' sche Gemisch (24—48 Stunden).

2. Imprägnation mit Arg. nitr. 1 proz. (24 Stunden).

3. Neues Eintauchen in eine schwächere Osmio-Bichromlösung (1 pCt. Osmiumsäure 1,0, 2,5 Kal. bichrom. 10,0) (24—36 Stunden).

4. Arg. nitr. (24 Stunden.)

Kommt man hiermit noch nicht zum Ziel, so kann man statt der doppelten Methode die dreifache anwenden.

Statt des Kaliumsalzes der Chromsäure hat Kallius auch das Natrium- und Ammoniumsalz angewendet.

Die imprägnierten Stücke kommen für kurze Zeit in 96 proz. Spiritus, dann für ¼ Stunde in dicke Celloidinlösung. (Auf Holz aufgewickelte Netzhäute werden nach der Spiritushärtung losgelöst; Retinae, die mit dem Pinsel aufgewickelt waren, streift man von diesem ab, wenn man sie in das Golgi'sche Gemisch bringt; Netzhäute, die auf Hollundermark aufgewickelt waren, werden nicht abgelöst, sondern zusammen mit dem Hollundermark in Celloidin eingeschlossen und geschnitten.)

Aus der Celloidinlösung werden sie in ein ausgehöhltes Stück Hollundermark gelegt: Man spaltet ein dickes Stück Hollundermark der Länge nach, bringt an einem Ende eine genügend grosse Aushöhlung an, legt die Retinarolle hinein, und fügt beide Hälften des Hollundermarkes, mit Celloidin befeuchtet, aufeiannder. Man taucht jetzt das ganze Stück noch in Celloidin ein, lässt es einige Minuten trocknen und bringt schliesslich den ganzen Block eine halbe Stunde in Spiritus 80 proz. Dann kann man das Hollundermarkstück in die Mikrotomklammer einspannen und beliebig schneiden. Weiterbehandlung und Fixierung der Schnitte wie gewöhnlich. In ähnlicher Weise kann man sich auch einen Celloidinblock aus den frischen Tafeln zurechtschneiden, und in eine Höhlung desselben das Netzhautstückchen einbringen.

Man kann natürlich die Retinastückchen auch regelrecht in Celloidin einbetten. Da man es aber oft mit vielen kleinen Stückchen zu tun hat, bei denen eine regelrechte Celloidineinbettung viel zu lange dauern würde, und da der Erfolg der Imprägnation viel zu zweifelhaft ist, um die Aufwendung von so viel Zeit und Mühe zu rechtfertigen, so tut man gut, sich mit dieser oberflächlichen Celloidineinbettung zu begnügen, zumal da die Schnitte gar nicht dünn zu sein brauchen.

Am leichtesten imprägnieren sich die radialen Stützfasern, dann die bipolaren Zellen und die Spongioblasten, ferner die Optikusganglienzellen, die Nervenfasern, die Stäbchen- und Zapfenkörner, die Stäbchen- und Zapfenfaserkegel und deren Fortsätze, die Innenglieder der Stäbchen und Zapfen, und manchmal auch die Aussenglieder.

An Stelle der Osmiumsäure im Golgi'schen Gemisch hat Kopsch das Formol gesetzt. Die Resultate sind unzweifelhaft besser (cf. S. 119).

Die Netzhaut kommt in eine Mischung von

Kaliumbichromat	3,5 pCt.	40 ccm
käufl. Formaldehyd		10 „

Dunkelstellen ist nicht durchaus nötig, aber zu empfehlen. Nach 24 Stunden wird das Kaliumbichromat-Formaldehygemisch abgegossen und durch 3,5 proz. Kaliumbichromatlösung (ohne Formaldehydzusatz) ersetzt. Nach 2 Tagen sind die Müllerschen Stützfasern und Stäbchen- und Zapfenzellen imprägniert, nach 3—6 Tagen die Bipolaren, Spongioblasten u. s. w. Länger soll man die Lösung auf die Netzhaut nicht einwirken lassen, da die Färbung dann schlechter wird. Die Stücke kommen dann in die Silberlösung (0,75 pCt.).

η) Die Anwendung der **Methylenblaumethode** auf die Retina bedarf noch einer besonderen Besprechung an dieser Stelle (cf. auch S. 121). Man kann die Retina färben 1. durch die vitale Injektion, 2. durch Einspritzen der Methylenblaulösung in den Glaskörper, 3. durch Aufgiessen der Methylenblaulösung auf die in situ befindliche Retina nach Entfernung des Glaskörpers, 4. auf dem Objektträger.

Die ersten drei Methoden sind unpraktisch, führen selten zum Ziel und gestatten keine Kontrolle der Färbung. Die Färbung auf dem Objektträger ist ihnen bei weitem vorzuziehen.

Zu diesem Zwecke wird die Retina in Segmente zerschnitten (vgl. S. 210) und nebst dem anhaftenden Glaskörper auf einen grossen Objektträger übertragen. Hier wird dieselbe, mit der Nervenfaserschicht nach oben, ausgebreitet und der Glaskörper mit einer Scheere abgetragen, der Rest desselben teilweise aber im Zusammenhange mit der Retina belassen, so dass dieselbe vor Austrocknung geschützt bleibt. Auf die ausgebreitete Retina werden mittelst einer Pipette einige Tropfen einer $^1/_{16}$ proz. Methylenblaulösung (in physiolog. Kochsalzlösung) geträufelt und dann das Präparat durch Bedeckung mit einem grossen Uhrglase vor Verdunstung geschützt. Von Zeit zu Zeit untersucht man mit schwachen Objektiven und kontrolliert den Fortschritt der Nervenfärbung. Dabei ist es nötig, durch wiederholtes Aufträufeln von Methylenblau die Vertrocknung des Präparates zu verhüten. Sobald das Maximum der Färbung eingetreten, entfernt man die auf dem Objektträger befindliche Methylenblaulösung und den Rest des Glaskörpers, soweit als möglich. Dann benetzt man die Oberfläche der ausgebreiteten Retina auf dem Objektträger mit mehreren

Tropfen einer gesättigten wässerigen Ammoniumpikratlösung (allein oder unter Zusatz von Osmiumsäure) und lässt das Präparat, möglichst luftdicht zugedeckt, 18—20 Stunden lang stehen, worauf man die fixierende Flüssigkeit durch chemisch reines, mit gleichem Volumen Wasser verdünntes Glyzerin ersetzt und dann ein Deckgläschen auf das Präparat legt. Um jeden Druck auf das Präparat zu vermeiden, wird es vor Auflegung des Deckglases mit einem Rähmchen aus dickem Papier umgeben. Nach einigen Tagen hat es dann einen genügenden Grad von Durchsichtigkeit erreicht (Dogiel). Gefärbt sind meistens nur die Nervenfasern und Ganglienzellen. Für letztere ersetzt die Methylenblaumethode nach Dogiel vollständig die Nissl'sche Methode, indem die Bestandteile der Nervenzellen ausserordentlich klar und deutlich zu erkennen sind. Die Stäbchen der menschlichen Netzhaut werden durch Methylenblau nach Dogiel nur dann gefärbt, wenn eine möglichst frische Retina einer ziemlich lange dauernden Einwirkung des Farbstoffes ausgesetzt wird. Hierbei nehmen aber nur die Innenglieder der Stäbchen den Farbstoff auf, während die Aussenglieder ungefärbt bleiben. In dem Innenglied färbt sich das Stäbchenellipsoid viel intensiver als die übrigen Teile der Zelle. Bei Säugetieren und Vögeln tritt die Färbung innerhalb der inneren Körnerschicht an den sternförmigen Zellen, an den bipolaren Nervenzellen und an den Spongioblasten ein. Bei den Amphibien lassen sich in der inneren Körnerschicht dreierlei färbbare Zellenarten darstellen. (Dogiel.)

Um Schnittpräparate aus der mit pikrinsaurem Ammoniak fixierten Netzhaut herzustellen, hat sich nach Dogiel Folgendes als das Brauchbarste herausgestellt: Man breitet ein in Methylenblau gefärbtes Stück Retina auf der einen Seite eines zersägten Hollundermarkstückchens vorsichtig aus und lässt das Präparat sodann an das Hollundermark anfrieren. Dann werden die Schnitte angefertigt und dieselben in Ammoniumpikrat fixiert, oder man fixiert die Retina vorher, fertigt dann Schnitte an und bringt dieselben direkt in Glyzerin. Dogiel macht auch darauf aufmerksam, dass die bei den Flächenpräparaten nicht zu vermeidenden Falten, sowie Inzisionen, die man nach Einwirkung der fixierenden Flüssigkeit mit einer Scheere in den Rand des Präpartaes macht, oft mit demselben Erfolge wie regelrechte Schnittpräparate zu verwenden sind.

Auch eine Einbettung der mit Methylenblau gefärbten Retina in Celloidin oder Paraffin ist möglich. Man fixiert zu diesem

Zwecke die gefärbte Retina nach Bethe mit Ammoniummolybdat (cf. S. 125)

2. Spezielle Darstellung der einzelnen Schichten.

a) **Margo limitans retinae** s. interna.

Eine glatte Trennung des Glaskörpers mit der Hyaloidea von der inneren Oberfläche der Retina, dem Margo limitans, gelingt an erhärteten Augen nur schwer, leichter an frischen Augen vom Schaf und Schwein. Im menschlichen Auge dagegen und überhaupt in allen denjenigen, die sich durch Muzinreichtum auszeichnen, gelingt es selbst im frischen Zustande schwer, den Glaskörper von der Retina vollkommen zu trennen. Man findet deshalb gerade beim Menschen die Limitans auf Durchschnitten der Retina durch die Hyaloidea verstärkt. Die Radialfaserkegel haften der Limitans so innig an, dass bei dem Versuche, die Hyaloidea durch Abziehen von der inneren Fläche der Netzhaut zu isolieren, dieselben meist der Glashaut folgen, also von den zugehörigen Radialfasern abreissen. (Schwalbe.)

In den Fällen, wo eine Trennung der Hyaloidea von der Innenfläche der Retina im frischen Zustand nicht leicht gelingt, empfiehlt Schwalbe, die betreffenden Augen in toto einen Tag lang in Alkohol von 60 pCt. zu legen; es lassen sich dann Linse mit Zonula und Glaskörper leicht herauslösen, und man findet in diesem Falle die Hyaloidea stets auf der Oberfläche des Glaskörpers.

Durch Injektionen von Berliner Blau, Alkannin-Terpentin unter die innere Optikusscheide gelingt es, die farbigen Massen zwischen Hyaloidea und Limitans interna zu treiben; (beim Mensch, Schaf, Schwein.) (Schwalbe.)

Breitet man eine frische Retina nach Entfernung der Hyaloidea in Wasser mit ihrer inneren Oberfläche nach oben auf dem Objektträger aus, so bedeckt sich ihre ganze Oberfläche mit hellen, hyalinen Kugeln. Dieses beruht auf Quellung der die Radialfaserkegel ausfüllenden Protoplasmakörper. (Kölliker.)

Die Kittlinien zwischen den Fussplatten der Stützzellen kann man darstellen mit dem Golgischen Verfahren, der Methylenblaumethode oder durch Versilberung mit Silbernitrat ¼—½ proz. (Schelske, Retzius) Durch Maceration der versilberten Retina in Glyzerin oder der

frischen Netzhaut in $^1/_3$ Alkohol kann man die Radiärfasern isolieren.

b) **Nervenfaserschicht** (Optikusfaserschicht).

Eine Isolierung der Nervenfasern gelingt im frischen Zustande nur unvollständig, dagegen leicht nach Anwendung von Jodserum, Chlornatrium 10 proz., dünnen Lösungen von Chromsäure und Kal. bichrom. Dieselben sind dann mit Varikositäten versehen. Diese kommen dadurch zu Stande, dass die interfibrilläre Substanz der Achsenzylinder, die bei niederen Wirbeltieren, besonders bei den Knorpelfischen viel reichlicher vertreten ist als beim Menschen, sowohl durch das Absterben des Nervengewebes als auch durch den Einfluss der verschiedenen Reagentien rasch eintretende Veränderungen erleidet. Die Varikositätenbildung ist zu vermeiden, wenn man eine vorsichtige Erhärtung in konzentrierten Lösungen anwendet: in stärkeren Lösungen der Chromsäure, in Alkohol erhalten sich die Nervenfasern meist in ihrer natürlichen Gestalt. Bei der Isolierung derselben durch Jodserum kann man nach M. Schultze die Varikositätenbildung durch Zusatz von Kochsalz zum Jodserum vermeiden, durch Verdünnung mit Wasser befördern. Eine Isolierung der ganzen Schicht ist möglich, wenn man die Augen (Kalb) einige Tage in Alkohol 60 proz. legt.

Um den Verlauf der Fasern an Flächenpräparaten zu übersehen, bediene man sich der Methylenblaumethode. Chiewitz wandte zu diesem Zweck eine oberflächliche Karminfärbung an: Die mit Salpetersäure fixierte Netzhaut wird mit Pikrinsäurelösung imbibiert und dann die innere Seite mit Alaunkarmin und neutralem Karmin im Verhältnis 4:1 gefärbt, wobei es darauf ankommt, dass die Farbe nicht tiefer als in die Optikusfaserschicht eindringt.

Eine etwas umständliche Methode hat Michel beschrieben, um die Ausstrahlung der Sehnervenfasern auf der inneren Oberfläche der Retina zu erkennen: „Man durchtrenne einen menschlichen Bulbus, welcher 4—6 Wochen in Müller'scher Lösung oder 2 proz. Kali bichromicum-Lösung aufbewahrt war, in der Gegend der ora serrata durch einen äquatorial geführten Schnitt, nachdem man zuvor den N. optikus so weit als möglich von seiner Eintrittsstelle in den Bulbus durchschnitten hat; der Glaskörper fällt gewöhnlich von selbst oder nach leichtem Schütteln des Bulbus heraus. Drei bis vier Schnitte von 6—8 mm Länge führe

man dann in radiärer Richtung an verschiedenen, ziemlich gleichweit von einander entfernten Stellen durch Sklera, Chorioidea und Retina, biege zunächst die so abgeteilten Stücke der Sklera etwas um und löse sie durch Weiterführung der Schnitte bis in die Nähe der Eintrittsstelle des Optikus, zuletzt an dieser Stelle ringsherum ab; die Chorioidea folgt zur gleichen Zeit fast regelmässig mit, oder kann mit einer feinfassenden Pinzette entfernt werden. Während man diese ganze Manipulation über einem grösseren Objektträger ausgeführt hat, wird die Retina mit der inneren Fläche sogleich auf demselben ausgebreitet, der Rest der Chorioidea und Sklera an der Eintrittsstelle des Sehnerven entfernt, indem man mit einer Scheere zwischen diesem Reste und der Retina eingeht, und den N. optikus in der Lamina cribrosa durchtrennt. Die glattere Ausbreitung bewirke man dadurch, dass man den feinen Wasserstrahl einer Spritzflasche auf das Präparat einwirken lässt. Das Wasser wird alsdann sorgfältig mit Fliesspapier aufgesaugt. Auf die Retina bringe man nachher einige Tropfen einer aus gleichen Teilen Gummi arab. und Glyzerin zusammengesetzten, mit 1 proz. Acid. carbolicum versetzten und filtrierten Flüssigkeit, glätte die Retina nötigenfalls mit einem breiten Spatel auf dem Objektträger, und lasse das Präparat, geschützt durch eine Glasglocke, liegen. In den meisten Fällen ist nach ca. 24 Stunden eine Verdunstung eingetreten, die Oberfläche des ausgebreiteten Präparates erscheint etwas trocken, und dasselbe klebt auf der Glasplatte an. Ist dies eingetreten, dann benutzt man eine feine Starnadel, um zur Isolierung der Nervenfaserschicht durch Entfernung der über derselben gelegenen Schichten der Retina überzugehen. Man setze die Starnadel ziemlich fest mit der scharfen Kante an den Grenzen der Papille auf und gehe schabend von hier aus gegen die Peripherie vor. Dass man bis auf die Nervenfaserschicht vorgedrungen ist, erkennt man leicht daran, dass eine homogene und durchscheinende Schicht sich zeigt. Mit unbewaffnetem Auge kann man die gröberen Nervenfaserbündel ziemlich deutlich wahrnehmen, mit einer Lupe gelingt dies unschwer. Um keine Risse in die Nervenfaserschicht zu machen, ist es am zweckmässigsten, mit der Starnadel genau in den Richtungen des Verlaufs der Nervenfasern fortzuschreiten. Nachdem man auf diese Weise die Nervenfaserschicht isoliert hat, kann man das Präparat durch Abspülen mit der Gummi-Glyzerinlösung von den abgeschabten, teilweise zurückgebliebenen Gewebsteilen reinigen und es in derselben einschliessen; die einzelnen

Nervenbündel erscheinen gelblich gefärbt. Oder, nachdem man Objektträger nebst Präparat zum Zwecke der Reinigung mit der Spritzflasche behandelt und in eine mit Aq. dest. gefüllte Schale getaucht hat, lässt man es $\frac{1}{2}$—$\frac{3}{4}$ Stunde darin verweilen, damit das anhaftende Gummi arab. sich auflöse. Ist dies geschehen, dann gehe man zur Färbung des Präparates (Karmin oder Hämatoxylin), Entwässerung u. s. w. über. Die innere Fläche der Nervenfaserschicht lässt man auf dem Objektträger nach oben sehen."

Für die Färbung der Achsenzylinder und Neurofibrillen dienen die auf S. 103—107 erwähnten Methoden, für die Darstellung von markhaltigen Nervenfasern s. S. 99—103.

Anm. Markhaltige Nervenfasern finden sich manchmal beim Menschen, Hund, Ochsen. Konstant kommen sie vor bei den Nagern und Beuteltieren; ferner bei den Fischen (Stör, Plagiostomen, Aal) und auch bei den Vögeln.

c) Ganglienzellenschicht.

Zur Untersuchung der Ganglienzellen in ganz frischem Zustande nehme man Teile aus der Ora serrata und untersuche sie in Humor aquens.

Zur Isolierung der Ganglienzellen eignen sich dünne Lösungen von Chromsäure, von Kal. bichrom., Mazeration in Osmiumsäure $^1/_{10}$ pCt. und Glyzerin, doppeltchromsauren Ammoniak 1: 3000—5000, konzentrierte Oxalsäure, Jodserum u. s. w.

Mazeriert man die Retina des Pferdes längere Zeit in dünnen Chromsäurelösungen $^1/_{20}$—$^1/_{30}$ proz., so lässt sich die Nervenfaserschicht mit einem Teile der Ganglienzellen von den äusseren Teilen der Netzhaut trennen. (Golgi u. Manfredi.)

Nach Manz gelingt dieses auch an der Retina des Frosches nach Behandlung mit dünnem Alkohol.

Zur Färbung der Ganglienzellen dienen die Golgi'sche und Methylenblaumethode, ferner die Methoden auf S. 107—110.

Anm. Die grössten Ganglienzellen kommen vor beim Elephanten und den Cataceen (Walfisch, Braunfisch), die kleinsten bei den Vögeln (Taube) und Reptilien (Chamäleon). Kleine Ganglienzellen enthält auch die Netzhaut des Frosches, grössere die der Fische.

d) Innere retikuläre Schicht.

Die netzförmige Struktur dieser Schicht zeigt sich besonders schön bei den niederen Wirbeltieren (Fische, Frosch) nach Anwendung von dünnen Chromsäurelösungen. Namentlich die Plagiostomen (Raja) zeichnen sich durch weite Maschen aus

(M. Schultze). Auch Osmiumsäure, Alkohol, die Merkel-sche Flüssigkeit. (1 proz. Chromsäure 100.0, 1 proz. Platinchlorid 100.0, dest. Wasser 600.0) machen die Struktur deutlich. (Schwalbe.)

Behandelt man die frische Netzhaut mit Essigsäure, so wird die Schicht dadurch deutlicher (Schwalbe).

Anm. Die innere retikuläre Schicht ist bei den Tieren meist dicker als beim Menschen, namentlich bei den niederen Wirbeltieren. An Netzhäuten von Reptilien und Vögeln zeigt diese Schicht einen geschichteten Bau.

e) Innere Körnerschicht.

Isolation der Ganglienzellen dieser Schicht mit ihren Ausläufern gelingt durch Jodserum (Schwalbe).

Die Schicht der Spongioblasten (Amakrine Zellen) zeichnet sich durch stärkeres Imbibitionsvermögen gegen Farbstoffe (Hämatoxylin, Karmin) gegenüber den anderen inneren Körnern aus. Eine zwei- bis dreifache Lage grosser leicht färbbarer Horizontalzellen findet sich bei den Fischen.

f) Äussere retikuläre Schicht.

Um diese Schicht kennen zu lernen, ist es notwendig, sich Flächenansichten davon zu verschaffen. Dieses geht durch Flächenschnitte, aber besser verfährt man so, dass man die ganze Lage zu isolieren sucht. Es gelingt dies allerdings nur im Zusammenhang mit einer der beiden anliegenden Schichten.

Die Retina der Fische (Hecht) kann man durch Mazeration in Müller's cher Flüssigkeit in zwei Lagen spalten, deren äussere Stäbchen und Zapfen mit äusseren Körnern und die Hauptmasse der äusseren granulierten (retikulären) Schicht enthält; letztere gelingt es dann beim Zerzupfen dieser Lage bruchstückweise zu isolieren (Schwalbe).

Auch beim Pferde gelingt die Flächenspaltung durch 10—20 tägige Behandlung der angeschnittenen Bulbi mit Chromsäure (0,05—0,10 proz. oder Kali bichromicum (0,25—0,75 proz.). Man erhält auf diese Weise die äussere granulierte Schicht in Verbindung mit einem Teile der inneren Körner (Rivolta).

Anwendung der Golgi'schen Methode.

g) Äussere Körnerschicht.

Während bei Amphibien, Reptilien und Vögeln die Stäbchen- und Zapfenkörner als solche nicht zu unterscheiden sind, ist dies

bei den Säugetieren und Fischen leicht möglich: 1. Hier liegen die Zapfenkörner zunächst an der Limitans externa, während die viel zahlreicheren Stäbchenkörner in den inneren Schichten liegen. 2. Die Zapfenkörner übertreffen an Länge und Breite die Stäbchenkörner. 3. Die Kerne der Stäbchenkörner zeigen eine eigenartige Chromatinanordnung (Querstreifung), die der Zapfenkörner nicht, dafür besitzen sie aber ein deutliches Kernkörperchen. Färbung nach Birch-Hirschfeld (S. 216).

Rudloff hat auf eine Eigentümlichkeit der äusseren Körnerschicht aufmerksam gemacht: Färbt man eine in Sublimat fixierte Netzhaut nach der Gram'schen Methode, so werden nur die äusseren Körner dunkelblau gefärbt, alle Kerne der Retina bleiben farblos. Färbt man nachträglich mit alkoholischem Eosin, so bleibt jene Blaufärbung bestehen, färbt man dagegen mit wässerigem Bismarckbraun, so verschwindet die blaue Farbe und macht der Gelbfärbung des Bismarckbraun Platz.

Anm. Die äussere Körnerschicht ist am mächtigsten entwickelt bei den Säugetieren und Fischen. Dagegen zeigen Amphibien, Reptilien und Vögel nur eine sehr dünne Granulosa externa. Landolt'sche Keulen finden sich in der Retina von Triton und Salamandra.

h) Membrana limitans externa.

Flächenansichten des Gitterwerks dieser Membran erhält man nach Krause, wenn man Netzhäute, die vorher mit dünner Chromsäure (0.05 proz.) oder Kali bichromicum behandelt waren, gefrieren lässt und dann Flächenschnitte anfertigt.

Mit dem Golgi'schen Verfahren erkennt man den Zusammenhang dieser Membran mit den Müller'schen Stützfasern.

i) Stäbchen-Zapfenschicht.

Isolierung der Stäbchen und Zapfen. S. 212. Mosaik der Stäbchen und Zapfen. S. 209.

Färbung mit Kultschitzky's Essigsäure-Hämatoxylin. (S. 101.) Die Schnitte (nach Fixation in Müller'scher Flüssigkeit oder besser in Chromsäure 1 proz.) kommen über Nacht in eine 1 proz. Lösung von Chromsäure, werden kurze Zeit ausgewässert und kommen dann auf 20 Stunden in Essigsäure-Hämatoxylin. Die Auswässerung darf nicht zu lange geschehen, weil sonst die Färbung eine mangelhafte wird. Nach der Beizung kommen die Schnitte auf 12 Stunden in die Weigert'sche Boraxferricyankaliumlösung (cf. S. 100). Die Entfärbung geht ziemlich schnell

vor sich. Die Differenzierung ist vollbracht, wenn die Stäbchen-Zapfenschicht allein noch dunkel gefärbt hervortritt, alle übrigen Schichten für das blosse Auge einen bräunlichen Ton angenommen haben. Ohne die Differenzierung erhält man nur eine intensive Blaufärbung der ganzen Retina. Die Aussenglieder und Ellipsoide der Stäbchen und Zapfen werden blau gefärbt, während die Innenglieder den hellbraunen Ton der übrigen Netzhaut annehmen. (Schaffer.)

Vergoldungsmethode. Einlegen auf $^1/_2$—1 Tag in $^1/_3$—1 proz. Chlorzinnlösung, abspülen, einlegen auf 1—24 Stunden in $^1/_{20}$—$^1/_3$ proz. Chlorgoldlösung, abspülen oder einlegen in Glyzerinlösung 1 : 3. Am meisten zu empfehlen für Zupfpräparate. In der Froschretina werden die Aussenglieder der Stäbchen und Zapfen ungleichmässig rot gefärbt, an der Oberfläche erscheinen grellrote Streifen, senkrecht zur Längsaxe. In den Innengliedern bleibt ein Teil des Kernes ungefärbt, ein anderer erhält dunkelhimbeerfarbiges oder schwärzliches Kolorit. Das Chromatin im farblosen Teil und die Körnchen können durch eine Kernfarbe (Methylenblau, Gentian) noch gefärbt werden. (Lominski).

Um die Veränderungen an den Stäbchen der Froschnetzhaut unter Einwirkung von **Licht** und **Dunkelheit** zu studieren, setzt man die Lichtfrösche (Rana esculenta) 1½ Stunden dem direkten Sonnenlichte aus, nachdem sie vorher im Dunkeln gewesen waren. Dann werden die Frösche geköpft, die Bulbi enukleiert, geöffnet, 24 Stunden lang in 1 proz. Osmiumsäure fixiert, ausgewaschen, und die Retinastückchen zerzupft. Die Dunkelfrösche werden 2—3 Stunden lang in der Dunkelkammer gehalten, dann ebenso behandelt wie die Lichtfrösche. Beide Arten von Präparaten bleiben auch nach dem Einlegen in die Fixierungsflüssigkeit noch eine Zeit lang unter denselben Beleuchtungsverhältnissen wie vorher. Um gefärbte Schnitte anzufertigen, kommen die Bulbi teils uneröffnet, teils zerschnitten in 50 proz. Alkohol, dann in steigenden Alkohol, dann Celloidineinbettung. Um das Pigment, in dem die Stäbchen, wenigstens im Hellauge, gänzlich verborgen liegen, zu entfernen, dient das Verfahren von Exner und Januschke. (S. 207.) Färbung mit Hämalaun. (Lederer.)

Zur Untersuchung der Bewegungsvorgänge empfiehlt Herzog folgendes Verfahren: Fixation in Salpetersäure, Aufschneiden des Bulbus, flache Ausbreitung des hinteren Abschnittes mit der Skleralseite auf einer Glasplatte nach Anlegung folgender Einschnitte durch Netzhaut, Aderhaut und Sklera. 1. Oben und unten radiär auf die Pupille zu, 2. seitlich, rechts und links von der Papille, je zwei horizontale Einschnitte parallel dem hori-

zontalen Meridian, so dass der foveale Bezirk unberührt bleibt. Darauf Ausstanzen — mit rechteckig geformter Stanze — eines Streifens temporal von der Papille bis auf die Sklera. Abpinseln, bzw. Abziehen der Aderhaut von der Rückseite des Streifens, wobei das Pigmentepithel auf der Netzhaut bleiben muss. (Präparate, bei welchen sich das Pigmentepithel von der Stäbchenzapfenschicht abgelöst hat, sind für die exakte Beurteilung der jeweiligen Zapfenstellung, bzw. der Dimensionen der Stäbchen und Zapfen absolut unbrauchbar, eine Schwierigkeit, die besonders bei der leicht ausschlüpfenden Dunkelnetzhaut in Betracht kommt.) Paraffineinbettung (Xylol, 10 Minuten). Färbung (Hämatoxylin, Lith. carbon., Säurefuchsin).

Um Längenveränderungen der Zapfen durch eventuell bei der Enukleation sich geltend machende Einflüsse auszuschliessen, injiziert man nach Garten in tiefer Äthernarkose von der Herzspitze aus (beim Affen) zunächst körperwarme Ringer sche Lösung (Na Cl 8,0. KCl 0,1, Ca Cl_2 0,2, Aq. dest. 1000,0) und spritzt, sobald aus dem eröffneten rechten Vorhof die Flüssigkeit klar abfliesst, Zenker sche Lösung ein. Wie die Streckung der Extremitäten anzeigt, tritt eine fast momentane Starre sämtlicher Muskeln ein. Die Augen bleiben hierbei ganz unberührt im Körper und werden erst nach der Fixierung enucleiert. Bei Versuchen mit Dunkeladaption werden schon 1—2 Tage zuvor beide Augen durch einen lichtdichten Kollodium-Tuscheverband, der noch durch geschwärztes Waschleder, das an der Haut durch einige Nähte fixiert wird, geschlossen. Ausserdem wird das Tier bis zur Tötung im Dunkeln gehalten und bei gedämpftem künstlichen Licht die Injektion ausgeführt. — Zur Färbung (bei der Taubenretina) empfiehlt Garten Thionin, Methylenblau und Erythrosin: Die Stäbchenaussenglieder heben sich durch einen wasserblauen Farbton deutlich hervor. Zur Darstellung des Zapfenellipsoids Hämatoxylinfärbung nach Weigert, Kultschitzky und Wolters. (S. 218).

Chemische Reaktion. Zum Nachweis der Umstimmung der alkalischen Reaktion der Dunkelnetzhaut in die saure bei der Belichtung, dient nach Birnbacher die Biondi-Heidenhain'sche Flüssigkeit. In der belichteten Netzhaut werden die Zapfen grün, in der unbelichteten gelb gefärbt. Birnbacher macht ferner darauf aufmerksam, dass belichtete Netzhäute durch saure Farbstoffe diffus sehr schwach gefärbt werden, bei Anwendung von Eosin in einem schwachen, schmutzig gelblichen Farbenton. (Man bringt die Schnitte (Fixation in 3,5 proz. Salpetersäure) in alkohol. konzentr. Lösung von Eosinextragelb und überfärbt sie durch ½ stündiges Liegenlassen, dann entfärbt man sie in öfters gewechseltem Alkohol von 95 proz., bis sie keinen Farbstoff mehr abgeben und ganz blassrosa aussehen). In der nicht belichteten Netzhaut (6—24 Stunden im Dunkeln)

werden die Zapfen-Ellipsoide bei Eosinfärbung rosenrot, bei Säurefuchsin kirschrot, bei Säureviolett blau, bei Aurantia gelb. Besonders gut für diese Beobachtungen eignen sich die grossen Zapfen von Perca fluviatilis.

Isoliert man die Netzhäute eines Dunkelfrosches und legt eine jede in eine geringe, mit Kalilauge neutralisierte Lösung von Phenolphtalein von rotvioletter Farbe, so entfärbt die darauf dem Licht ausgesetzte Retina die Flüssigkeit, welche unverändert bleibt, wenn die Netzhaut im Dunkeln bleibt. (Dittler.)

α) **Stäbchen.**

Die einfach lichtbrechenden Innenglieder der Stäbchen färben sich durch ammoniakalische Karminlösung, Jodlösung u. s. w., die doppelt lichtbrechenden Aussenglieder durch Osmiumsäure, namentlich beim Frosch, grünbraun oder grünschwarz. (Kühne nennt diese sich grünschwarz färbende Masse Myeloid im Gegensatz zu dem Myelin der Markscheiden. In den Stäbchen-Aussengliedern der Säugetiere kommt das Myeloid in viel geringerer Menge vor; deshalb tritt nur eine grünbraune Färbung ein.)

Der kuppelförmige Aufsatz an den **Aussengliedern** (Frosch, Schwein) trennt sich sehr leicht von diesen. Um ihn gut zur Anschauung zu bringen, empfiehlt Schwalbe eine 24 stündige Behandlung der Retina mit konzentrierter Salzsäure, dann Auswaschen.

Eine Längsstreifung an den Aussengliedern erkennt man leicht an den dicken Stäbchen der Froschnetzhaut.

Einen Zerfall der Aussenglieder in Plättchen beobachtet man nach Einwirkung von verdünntem Serum, Humor vitreus, Kochsalzlösungen u. s. w. Dabei treten hirtenstabförmige Verbiegungen und Knickungen ein. Schliesslich bilden sich helle myelinähnliche Tropfen. Durch Behandlung mit dünner Chromsäure oder Kali bichromicum kann man letzteres leicht hervorrufen.

Die Querstreifung der Stäbchen wird deutlich durch Behandlung mit dünner Essigsäure.

Auf Zusatz von sehr verdünnter Kalilauge wird im ersten Moment die Querstreifung deutlicher, dann treten starke Quellungserscheinungen ein.

Durch etwas konzentriertere Säuren u. s. w. werden die Aussenglieder augenblicklich zerstört.

Mit Zucker und Schwefelsäure färben sie sich rötlich, durch Schwefelsäure nach Übersättigung mit Alkalien gelblich.

Zur Untersuchung des **Sehpurpurs** setze man einen Frosch 2 Stunden lang ins Dunkle, eröffne die enukleirten Augäpfel und härte jetzt die Netzhäute in 4 proz. Alaunlösung oder 10 proz. Formollösung 3—24 Stunden lang.

Auf diese Weise kann man die Netzhäute leicht ohne Zerreissung von der Chorioidea abziehen, und ausserdem wird der Sehpurpur dadurch resistenter gegen das Licht gemacht. Alle Manipulationen werden im dunklen Zimmer bei Natronlicht oder mit der roten Dunkelkammerlampe vorgenommen. Nach vollendeter Härtung wird die Retina unter physiologischer Kochsalzlösung oder schwacher Formollösung abgelöst und dann ins Helle gebracht. Die Untersuchung muss möglichst rasch ausgeführt werden, da die Intensität des Sehpurpurs sehr rasch abnimmt.

Um das Ausschlüpfen der Netzhaut aus dem Pigmentepithel (das in diesem Falle sehr erwünscht ist, im Gegensatz zu S. 230) zu erleichtern, empfiehlt sich nach Garten 1. die Erzeugung eines Curareödems und hiermit kombiniert 2. Chininvergiftung des Frosches zwecks Lähmung der Pigmentepithelien. (Ovio.)

Froschnetzhäute, die am Sonnenlicht total ausgebleicht sind, zeigen, wieder ins Dunkle gebracht, eine Wiederherstellung des Sehpurpurs in 1—2 Stunden, Kaninchennetzhäute schon in einer ½ Stunde. Diese Autoregeneration kann sich öfter wiederholen und wird noch deutlicher an Netzhäuten, die 24 Stunden in gewöhnlicher Na Cl-Lösung gelegt, mit verdünnter Salzsäure ausgewaschen und hierauf gebleicht werden. Von Einfluss auf die Regeneration ist die Berührung mit dem Epithelpigment.

Besonders reich an Sehpurpur ist die Netzhaut der meisten Fische und Eulen. Verschiedene Säugetiere (Kaninchen, Rind, Hammel, Hund, Katze) zeigen nach längerem Dunkelaufenthalt neben der der Netzhaut allgemein zukommenden Purpurfärbung eine Zone intensiverer Rötung, die in Form eines Streifens vom temporalen zum nasalen Pol des Auges sich hinzieht, d. sog. Sehleiste. (Kühne.)

Um den Sehpurpur gegen Licht unempfindlicher zu machen, verfährt man nach Hess so, dass die Augen der Tiere, die mindestens 12 Stunden im Dunkeln gehalten wurden, bei rotem Lichte enukleiert werden. Die Netzhäute werden dann in 4 Quadranten zerschnitten, auf einer reinen Glasplatte ausgebreitet und 24—48 Stunden lang im Brutschranke bei 35° C. getrocknet. Dann werden die Glasplatten mit den Netzhäuten in Benzol (12—24 Stunden) gebracht, das öfters gewechselt wird. Diese Untersuchungsmethode eignet

sich auch gut für die Untersuchung von Vogelnetzhäuten (Huhn, Taube), da die farbigen Ölkugeln, die die Untersuchung dieser Retinae sonst unmöglich machen, durch das Benzol aufgelöst werden. Andererseits wird der Sehpurpur davon nicht wesentlich alteriert. So behandelte Netzhäute zeigen auch nach einem Dunkel-Aufenthalte von mehreren Tagen in Benzol noch eine schön rote (Frosch, Rind, Kätzchen) oder gelbliche (Huhn, Taube) Farbe, wenn man sie im Dunkeln getrocknet (was bei der Flüchtigkeit des Benzols nur wenige Sekunden erfordert) hat und sie dann rasch in einem mässig hellen Raum auf weisser Unterlage betrachtet.

Eine Art Fixation des Sehpurpurs erreicht man nach Stern, wenn man die Augen (Frosch, Kaninchen, Katze) nach Abtragung der vorderen Bulbushälfte und Entfernung der Linse in eine 2.5 proz. Platinchloridlösung für 12—14 Stunden einlegt. (Die Augen des Frosches bleiben der leichteren Handhabung wegen mit den Orbitalknochen in Verbindung). Dann (eventuelle vorherige Entfernung der Orbitalknochen) Entwässerung in absol. Alkohol, Xylol, Paraffin. Auf Schnitten (10—20 μ) sind die Aussenglieder der Stäbchen intensiv orange gefärbt. Färbung fast unempfindlich gegen Licht.

Anm. Alle Tiere mit ausgebildeter Stäbchenschicht besitzen Sehpurpur. Bei Amphibien, bei Knochen- und Knorpelfischen, sowie bei Säugetieren ist er nachgewiesen. In der menschlichen Netzhaut fehlt er nur in der Macula lutea und Fovea centralis, sowie in einer 3—4 mm breiten Randzone der Ora serrata. Bei Kaltblütern und bei den Arten mit stärkeren Stäbchen konserviert sich die Purpurfarbe länger und besser als bei den Warmblütern mit sehr feinen Stäbchen. Vei Vögeln und Reptilien ist die Untersuchung wegen der bunten Öltropfen schwierig. Die Cephalopoden und Seekrebse zeigen eine noch intensivere Purpurfarbe als die Wirbeltiere, bei den Cephalopoden in der Stäbchenschicht, bei den Krebsen in den plättchenstrukturierten Sehstäben. Die nur Zapfen enthaltenden Netzhäute der meisten Reptilien entbehren des Sehrots. (Boll. Kühne)

Wird eine begrenzte Stelle der Netzhaut von intensivem Licht längere Zeit beleuchtet, so bleicht an dieser der Sehpurpur, und man erhält ein weisses Bild von dem hellen Objekte auf purpurnem Grunde, ein **Optogramm.** Kühne und Ewald haben für das Frosch-, Kaninchen- und Ochsenauge die Bedingungen festgestellt, unter welchen ein deutliches Optogramm zu erhalten ist. Das auf die Netzhaut fallende Bild muss scharf, das Licht gut sein und wenigstens 3—5 Minuten einwirken, das Auge des lebenden oder noch nicht lange getöteten Tieres muss gut fixiert werden und eine passende Stellung dem Objekte gegenüber einnehmen; das Auge muss vorher und nachher im Dunkeln

sein. Im Froschauge erhält man scharfe Bilder, wenn das Objekt (eine Gasflamme oder eine matte Glastafel mit 5 hellen und 5 schwarzen Streifen versehen) etwa 12—15 cm vom Auge entfernt steht. Nach Kuraresierung und Chininvergiftung lässt man das Gaslicht oder trübes Tageslicht 1—2 Stunden, Sonnenlicht etwa 30 Minuten einwirken. Bei längerer Exposition haftet das Retinaepithel so fest an der Netzhaut, dass entweder die Stäbchen abreissen, oder das Optogramm von dem Pigmentepithel verdeckt wird; im ersteren Falle erhält man höchstens Pseudooptogramme.

Für die Versuche am Kaninchen benutze man einen Kasten, dessen Deckel sich etwa 25 cm über der Cornea des Kaninchens befindet. Dem Kaninchen, das sich vorher 3—4 Stunden in einem absolut dunklen Raum befinden muss, wird hier der Kopf mit einem schwarzen Tuche bedeckt und hierauf der Kopf schnell abgeschnitten. Damit die auch am abgeschnittenen Kopfe fortgesetzten Kaubewegungen, die für einen optographischen Versuch stets störend wirken, wegfallen, wird mit einer Federspule Medulla oblongata und Gehirn zerstört. Der Kasten steht im Garten auf einem Tische, sodass vom freien Himmel möglichst viel Licht auf ihn fallen kann. In diesen Kasten wird der im Dunkelzimmer präparierte und bis dahin noch im schwarzen Tuche gehaltene Kopf gelegt, der Deckel wird geöffnet, das eine Auge zwei Minuten lang dem freien Lichte ausgesetzt, der Deckel wieder geschlossen und das andere Auge hierauf ebenso behandelt. Das dem Lichte exponierte Auge muss genau nach oben sehen. Als Objekte für die Optographie werden aus schwarzem Papier geschnittene Figuren benutzt, die auf eine direkt unter dem Kastendeckel befindliche Scheibe aus mattem Glase gelegt werden. Nach Beendigung der Exposition muss der Kopf schnell wieder bedeckt und in die Dunkelkammer getragen werden. Dort Eröffnung der Augen bei gelbem oder rotem Licht. Die Retina wird in Ringerscher Lösung losgelöst und mit der Innenfläche auf einem Porzellanknopf ausgebreitet. Auftropfen einer 2,5 proz. Platinchloridlösung. Das so fixierte Optogramm kann jetzt photographiert werden.

An den **Innengliedern** sieht man eine Längsstreifung nach Isolation durch Überosmiumsäure, Jodserum u. s. w.

Myoid. Färbung durch Kernfarbstoffe (Hämatoxylin).

Ellipsoid. Leicht sichtbar beim Frosch. Durch Jod färbt sich dasselbe dunkelgelb, während der übrige Teil des Innengliedes nur hellgelb gefärbt wird. Auch Osmiumsäure, ammoniak. Karmin,

Eosin, Säurefuchsin, Erythrosin, Lichtgrün färben das Ellipsoid stärker als die übrige Substanz. Hämatoxylinfärbung nach Weigert-Kultschitzky und Wolters (S. 218).

Bei den Säugetieren und Menschen zeigt das Ellipsoid nach Behandlung mit Osmiumsäure $\frac{1}{4}$—$\frac{1}{2}$ proz. eine faserige Struktur (Fadenapparat von M. Schultze.)

Bei Belichtung verkürzen sich die Innenglieder (Gradenigo, Angelucci).

Anm. Die längsten Stäbchen besitzen die Fische (bis 140 μ) die dicksten die Amphibien (Frosch, Salamander, Triton), die feinsten besitzt die Ratte. Man beachte die verschiedenen Formen der Innenglieder bei den Säugetieren und Menschen, bei den Fischen und Vögeln, bei den Amphibien. Bei vielen Eidechsen, Schlangen, Schildkröten und beschuppten Amphibien fehlen die Stäbchen.

β) **Zapfen.**

Die **Aussenglieder** der Zapfen verhalten sich im Allgemeinen ähnlich wie die Stäbchen. Der Plättchenzerfall tritt hier aber noch leichter ein als bei den Stäbchen, jedoch zerstreuen sich diese Plättchen nicht so leicht, wie die der Stäbchen in der umgebenden Flüssigkeit.

Einen bemerkenswerten Unterschied des Verhaltens der Stäbchen und Zapfen gegen gewisse Agentien erwähnt Schwalbe: Durch Behandlung mit 10 proz. Kochsalzlösung kann man beim Frosch die Zapfen mit ihren Auusengliedern vollkommen isolieren, während die Aussenglieder der Stäbchen in dieser Lösung unter Quellung und Schlängelung zugrunde gehen.

In den **Innengliedern** verhalten sich die Zapfen-Ellipsoide ähnlich wie die Stäbchen-Ellipsoide. An Stelle dieses Ellipsoids haben die Reptilien und die Vögel (besonders in einem der beiden Konstituenten eines Doppelzapfens) einen ovalen Körper (Oval von Merkel). Chemisch unterscheiden sich beide dadurch, dass das Oval durch Jod schön weinrot gefärbt wird, während das Ellipsoid eine gelbe oder gelbbraune Färbung annimmt. (Schwalbe.)

Eine sogen. Achsenfaser im Innenglied kann man (ähnlich auch bei den Stäbchen) nach Behandlung mit verschiedenen Reagentien (Müller'sche Flüssigkeit, Osmiumsäure, Essigsäure 3 proz., Jodserum) sehen.

Farblose oder **farbige** (rubinrot, orange, gelb, gelbbraun, grün, blassblau ?) **Ölkugeln** lassen sich besonders schön bei den Reptilien und Vögeln wahrnehmen. Auch die Amphibien und von den Fischen die Ganoiden (Stör) besitzen Ölkugeln.

Drei Reaktionen sind charakteristisch für die in den Öltropfen erhaltene Substanz:

1. Konzentrierte Schwefelsäure verwandelt die Farbe der Tropfen momentan in ein prachtvolles Dunkelviolett, welches sehr bald in ein tiefes und gesättigtes Blau übergeht.

2. Konzentrierte Salpetersäure färbt die Tropfen für einen Augenblick blaugrün und macht sie gleich darauf völlig farblos.

3. Jodlösung verwandelt die Farbe der Tropfen erst in ein sehr schönes Grün, später in Blaugrün. (Capranica.)

Untersuchung der Ölkugeln an Flächenpräparaten (s. S. 211), Zupfpräparaten und Querschnitten, eventuell noch Fixierung in Salpetersäure, welche die natürliche Farbe der Kugeln konserviert. Osmiumsäure schwärzt die Kugeln; solche Präparate dürfen nicht in Celloidin eingeschlossen werden (s. S. 138).

Die an die Ölkugeln gebundene farbige Substanz (Frosch, Eidechse, Chamäleon, Huhn, Taube) ist in Wasser und in wässerigen alkalischen, sauren oder neutralen Lösungen unlöslich, und wird in Lösung übergeführt durch Äthylalkohol, Amylalkohol, Methylalkohol, Benzin, Benzol, Chloroform und Äther. Alle diese Lösungen zeigen eine goldgelbe (Pigmentschicht des Frosches und Retina der Reptilien) oder eine orangegelbe (Huhn) Farbe. Im Gegensatz hierzu zeigen die nach Behandlung mit Schwefelkohlenstoff erhaltenen Lösungen eine orangerote und mit der Farbe des Sehrotes übereinstimmende rote Farbe.

Kühne gelang es, entsprechend den drei Farben der farbigen Kugeln in den Zapfen der Vögel, drei Pigmente darzustellen. Dazu wurden ca. 100 frisch in Alkohol geworfene Hühnernetzhäute mit Äther extrahiert, der gelbliche Alkohol zur Trockene verdampft, der Rückstand mit Äther ausgezogen, derselbe mit der Hauptlösung vereinigt, nach Verdunstung des Äthers das rote Fett in heissem Alkohol gelöst und darin mit Natron verseift. Die feste mennigrote Seife gab bei fraktionierter Extraktion an Petroleumäther zuerst nur den grüngelben, an Äther nur den orangefarben, zuletzt an Terpentinöl nur einen tief rosaroten Farbstoff ab. Der letztere ist nach Befreiung von Fett in Schwefelkohlenstoff unlöslich, während die beiden anderen davon, jeder mit besonderer Farbe, gelöst werden. Diese Farbstoffe werden als Chlorophan, Xanthophan und Rhodophan bezeichnet, und sie entsprechen den in der frischen Retina auffälligen und erkennbaren Fettkugeln in den Zapfen.

Das Chlorophan und Xanthophan geben die grünlichblaue Jodreaktion am besten, während sie am Rhodophan zwar dunkler, aber schmutziger und mehr grünlich ausfiel.

Die Untersuchung mit konzentrierter Schwefelsäure und Salpetersäure ergab eine unterschiedliche Reaktion bei den getrennten Pigmenten; mit Salpetersäure am schwächsten von Rhodophan, das nur vorübergehend blass blaugrün wurde und sich schnell grau entfärbte, intensiv und weniger flüchtig von Xantho- und Chlorophan; mit Schwefelsäure erschienen die

letzteren Pigmente reiner blau, das erstere vorübergehend schwarzblau, dann dunkelbraun.

Diffuses Pigment findet man in den Zapfen mancher Vögel (Taube, Huhn) und Reptilien (Eidechse).

Doppel- oder Zwillings-Zapfen finden sich bei allen Wirbeltierklassen mit Ausnahme der Säugetiere.

Bei Belichtung verkürzen sich die Innenglieder, im Dunkeln verlängern sie sich, und zwar sind bei Fröschen und Fischen, sowie bei Tauben die Veränderungen so gross, dass sie auch schon bei schwachen und mittelstarken Vergrösserungen konstatiert werden können, denn die Verkürzungen betragen bei Fröschen etwa 45 μ, bei Tauben etwa 15 μ. (Engelmann und van Genderen Stort, Pütter, Garten.)

Die zentrifugale Verschiebung der grossen Doppelzapfen der Fischretina bedingt eine entsprechende Krümmung der Stäbchenaussenglieder (van Genderen Stort).

Anm. Die Zapfen sind sehr gross bei den Fischen, schlank und deshalb stäbchenähnlich bei Reptilien und Vögeln. Bei den Fröschen sind sie auffallend klein.

k) Das Pigmentepithel.

Man untersuche dasselbe an Flächenpräparaten und an Durchschnitten. Eine grosse Rolle spielt die Pigmentwanderung unter dem Einfluss des Lichtes. Für solche Versuche eignen sich der Frosch, der Wassersalamander (Triton cristatus), die Taube, der Barsch (Perca fluviatilis) u. s. w. (Die Netzhaut des Brassen oder Bley [Abramis Brama] eignet sich weniger gut dazu, weil in den oberen zwei Dritteln der Retina sich neben dem Pigment in den Protoplasmafäden der Epithelzellen sowie in jenen Zellen selber eine weisse amorphe Masse [Guanin] befindet [Pseudotapetum nach Brücke, Tapetum retinale nach Kühne), die ein undurchsichtiges Hindernis bildet (v. Genderen Stort]).

Bei Untersuchungen über die Pigmentwanderung beim Frosch muss nach Fick stets die ganze Netzhaut zur Untersuchung kommen, da die einzelnen Regionen der Netzhaut bei Dunkelfröschen immer die Dunkelwirkung in sehr verschiedenem Grade zeigen. In der oberen Netzhauthälfte ist die Aussenstellung des Pigments am ausgesprochensten, weiter nach unten folgt sogenannte Bürstenstellung, in dem unteren Teil ist bald Aussenstellung, bald Bürstenstellung vorhanden (s. auch S. 229).

Kuhnt'sche Hüte bestehen aus Neurokeratin; sie bleiben bei der Verdauung mit Trypsin unverändert.

Fuscin, teilweise löslich in dem Mayer'schen Bleichungsmittel. (Sol. Kal. chlor. + Acid. mur. s. S. 205), und in heisser Kalilauge. (Kühne.) Sehr resistent bei der Fäulnis.

Lipochrin, beim Frosch, löslich in den gewöhnlichen Fettlösungsmitteln. Es gibt dieselben Farbenreaktionen, wie die farbigen Ölkugeln. (Kühne.)

Myeloidkörner finden sich beim Frosch, Eule, Bussard. Sie sind unlöslich in Fettlösungsmitteln und werden durch Osmiumsäure bei langer Einwirkung unrein braungrün gefärbt. (Kühne.)

Guanin, bei Fischen und einigen Reptilien, bildet das kreidig weisse retinale Tapetum im hinteren oberen Teile des Augenhintergrundes dieser Tiere. Der Stäbchenpurpur hebt sich hiervon sehr deutlich ab, und dadurch wird es ermöglicht, den Einfluss der Belichtung auf den Sehpurpur intra vitam ophthalmoskopisch zu untersuchen, so beim Bley und dem Krokodil (Abelsdorff.)

Ein Zwischenraum zwischen den Stäbchen, bzw. Zapfen und den Pigmentfortsätzen lässt sich durch Injektion mit Berliner Blau unter die Pialscheide des Optikus nachweisen.

Macula lutea.

Für die Untersuchung dieses Teiles der Retina gelten im Allgemeinen dieselben Regeln wie sie für die ganze Netzhaut angegeben sind. Man beachte nur, dass gerade hier die Netzhaut besonders fest mit dem Pigmentepithel zusammenhängt. Zur Fixierung können nur Salpetersäure und Formol in Betracht kommen, da sich hierin die Farbe der Macula sehr gut hält. In Wasser und Alkohol löst sich aber der Farbstoff.

In normalen Augen ist es, nachdem man den Bulbus halbiert hat, oft unmöglich, sofort mit Sicherheit die Stelle der Macula unter dem noch in der hinteren Bulbusschale befindlichen Glaskörper zu erkennen; erst nach einigem Warten hebt sie sich als brauner, etwas dunkler Fleck von ihrer Umgebung ab (s. S. 208). Bei der Ablösung der Macula geht man so vor, dass man in grösserer Entfernung von der Macula die Netzhaut in Viereckform mit einem scharfen Messer umschneidet und dann vorsichtig, eventuell mit Hilfe eines kleinen Spatels, von der Chorioidea abhebt. Die gelbe Farbe hält sich in physiologischer Kochsalzlösung. (Schmidt-Rimpler.) Schonender ist das Verfahren von Gullstrand,

der die Ablösung der Netzhaut ohne Anfassen derselben mit Instrumenten nur durch 15—20 Minuten langes Schütteln unter Wasser bewerkstelligt. Dann wird die Netzhaut von der Papille abgeschnitten und ein Objektträger vorsichtig unter die Netzhaut geschoben. Zur Konservierung der Farbe der Macula legt man das entsprechende Netzhautstück an ein Deckgläschen, schiebt dieses dann in eine am Ende zugeschmolzene weite Glasröhre, wonach die Röhre am anderen Ende verjüngt und an der Quecksilberluftpumpe unter Anwendung von Phosphorsäureanhydrid zum Entfernen der Wasserdämpfe evakuiert und abgeschmolzen wird. Das Präparat ist vor starkem Licht zu schützen.

Um Schnitte anzufertigen, verfahre man nach Dimmer folgendermassen: Man fixiert die Retina, schneidet dann ein viereckiges Stück derselben samt dem gelben Fleck heraus, legt es zwischen zwei Stückchen Hollundermark, welche mit einer dicken Gummilösung befeuchtet sind und bringt es auf die Platte des Gefriermikrotoms. Da beim Schneiden die Schnitte rasch auftauen und dann zerreissen, so tut man gut, nach jedem Schnitt auf den gefrorenen Block mit dem Pinsel eine dünne Schicht der Gummilösung aufzutragen und diese Schicht vor dem Schneiden zum Gefrieren zu bringen. Man bringt die Schnitte auf dem Objektträger in einen Tropfen konzentrierter Lösung von Kali acet. und schützt sie vor der Berührung mit dem Deckgläschen durch ein viereckiges Rähmchen aus Seidenpapier.

Anm. Ausser dem Menschen besitzen nur die Affen eine gelbe Macula und eine Fovea centralis. Eine ähnlich gebaute, aber nicht pigmentierte Stelle, die Area centralis findet sich, abgesehen von den Insektivoren und gewissen Nagern, bei den meisten Säugetieren (s. S. 214). Vögel und Reptilien haben eine einfache oder mehrfache Fovea; auch bei Knochenfischen kommt eine Fovea vor.

B. Pathologische Histologie.

Arteriosklerose der Gefässe. Untersuchung auf elastisches Gewebe s. S. 134.

Hyaline Entartung s. S. 145.

Retinitis albuminurica s. S. 137 u. 152.

Gliom. Färbung mit Hämatoxylin. Hierbei werden eventuell verfettete Partien violett, die übrigen blau gefärbt. Ferner kommen in Betracht die Achsenzylinderfärbung nach Mallory, die Golgi'sche Methode und die Weigert'sche Neurogliafärbung. Manchmal ist Entkalkung notwendig.

Literatur.

Abelsdorff, Sitz.-Ber. d. Akad. d. Wiss. z. Berlin. Bd. 18. 1895. — Zeitschr. f. Psych. u. Phys. d. Sinnesorgane. Bd. 14. 1897. — Arch. f. Augenheilk. Bd. 53. 1905. — Altmann, Arch. f. Anat. Phys. (Anat. Abt.). 1881. — Andogsky, Arch. f. Ophth. Bd. 44. II. 1897. — Angelucci, Gazzetta medica di Roma. 1885. — Bach, Transact. of the VIII. Intern. ophth. Congr. Edinburgh 1894. — Birch-Hirschfeld, Arch. f. Ophth. Bd. 50. — Birnbacher, Arch. f. Ophth. Bd. 40. V. 1894. — Boll, Berl. akad. Monatsber. 1876. — Arch. f. Anat. Phys. 1877. — Cajal, Die Retina der Wirbeltiere. Übers. v. Greef. Wiesbaden 1894. — Capranica, Physiol.-chem. Untersuch. über die farbigen Substanzen der Retina. 1877. — Chiewitz, Arch. f. Anat. Phys. (Anat. Abt.). Suppl. 1889. — Denissenko, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 19. 1881. — Dickmann, Inaug.-Diss. Marburg 1896. — Dimmer, Beitr. z. Anat. u. Phys. d. Macula lut. d. Menschen. 1894. — Dittler, Pflügers Arch. Bd. 117. 120. 1907. — Arch. di Ottolm. 1908. — Dogiel, Anat. Anz. III. No. 4. 5. 11. 12.. 1888. — Arch. f. mikr. Anat. Bd. 40. 1892. — Bd. 41. 1893. — Bd. 46. 1895. — Engelmann, Pflügers Arch. Bd. 35. — Engelmann u. van Genderen Stort. Pflügers Arch. Bd. 35. — Ewald, Sitz.-Ber. d. ophth. Ges. Heidelberg 1877. — Ewald u. Kühne, Centralbl. f. d. med. Wiss. No. 42. — Falchi, Arch. f. Ophth. Bd. 34. II. — Fick, Arch. f. Ophth. Bd. 37. II. 1891. — Flesch, Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. I. 1884. — Garten, Graefe-Sämisch. 2. Aufl. Bd. III. Kap. 12. 1907. — van Genderen Stort, Arch. f. Ophth. Bd. 33. III. 1887. — Golgi u. Manfredi, Giornale della R. acad. di Torimo. Agosto 1872. — Gradenigo, Intorno all'influenza della Luce e del Calore sulla retina della Rana. Padova 1885. — Grosskopf, Anat. Hefte. Bd. I. Abt. I. H. 4. — Gullstrand, Arch. f. Ophth. Bd. 62. 1906. — Hamann, Intern. Zeitschr. f. Anat. u. Hist. I. 1884. — Herzog, Arch. f. Physiol. 1905. — Hess, Arch. f. Augenheilk. Bd. 47. 1907. — Kallius, Anat. Hefte. 1894. — Kopsch, Anat. Anz. Bd. 11. 1896. — Koster, Arch. f. Ophth. Bd. 41. IV. — Krause, Die Membrana fenestrata der Retina. Leipzig 1868. — Handb. d. menschl. Anat. 1876. — Arch. f. mikr. Anat. Bd. 19. 1881. — Intern. Monatsschr. f. anat. Hist. Bd. I. 1884. — Bd. XI. 1894. — Kühne, Untersuch. d. physiol. Inst. Heidelberg 1877. — Bd. II. 1879. — Bd. III. 1880. — Zeitschr. f. Biol. 1895. — Kühne u. Ewald, Untersuch. d. phys. Inst. Heidelberg 1877. 1880. — Kuhnt, Ber. d. ophth. Ges. Heidelberg 1877. — Jenaische Zeitschr. f. Wiss. Bd. 24. 1889. — Kultschitzky Anat. Anz. Bd. V. 1890. — Lederer, Centralbl. f. Phys. Bd. 22. 1908. — Lennox, Arch. f. Ophth. Bd. 32. I. — Lominski, Russk. Arch. pathol. klin. med. i. bakteriol. XII. 1901. — Mann, Proceed. Scot. Mikrosk. Soc. 1894. — Manz, Zeitschr. f. rat. Med. Bd. 28. 1866. — Merkel, Arch. f. Ophth. Bd. 22. IV. 1876. — Graefe-Sämisch. I. Aufl. Bd. 1. — Michel, Über die Ausstrahlungsweise der Optikusfasern in die menschliche Retina. Beitr. z. Anat. u. Phys. als Festgabe Carl Ludwig gewidmet. Leipzig 1874. — Michel u. Wagner, Arch. f. Ophth. Bd. 32. II. — Naumoff, Arch. f. Ophth. Bd. 36. III. — Ovio, Annali di Ottalm. Bd. 24. 1895. — Pines, Zeitschr. f. Augenheilk. Bd. 2. 1899. — Pütter,

Graefe-Sämisch. II. Aufl. Bd. II. 1. Kap. X. — Retzius, Nordiskt medicinskt arkiv. Bd. III. No. 2. 1871. — Rivolta, Giorn. di anat. fisiol. e patol. degli animali. III. 1871. — Rudloff, Arch. f. Anat. Phys. 1886. — Schaffer, Sitz.-Ber. k. Akad. Wiss. Wien. Mathem.-naturw. Kl. III. 1890. — Schelske, Virchows Arch. Bd. 28. 1863. — Schiefferdecker, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 28. 1886. — Schmidt, Centralbl. f. d. med. Wiss. No. 57. 1874. — Schmidt-Rimpler, Arch. f. Ophth. Bd. 21. III. — Bd. 57. 1904. — Schultze, Retina. Strickers Handb. d. Lehre von d. Geweben. — Schwalbe, Graefe-Sämisch. I. Aufl. Bd. 1. — Sehrwald, Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 6. 1889. — Stern, Arch. f. Ophth. Bd. 61. 1905. — Tartuferi, Intern. Monatsschr. f. Anat. Phys. Bd. 4. 1887. — Thin, Journ. of Anat. a Phys. 13. 1881. — Waelchli, Arch. f. Ophth. Bd. 29. III. — Wolters, Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 7. 1891. — Zackenfels, Inaug.-Diss. Berlin 1897. — Zürn, Arch. f. Anat. Phys. (Anat. Abt.). 1902.

Vierzehntes Kapitel.

Nervus opticus.

Über die Herausnahme des Sehnerven s. S. 4. Um sich an einer grösseren Serie von Optikusquerschnitten orientieren zu können, zieht man vor der Abtrennung desselben vom Bulbus mit einem scharfen Messer an der temporalen Seite einen Schnitt durch die Durascheide. An der klaffenden Spalte erkennt man alsdann auf jedem Querschnitt, wo aussen war. (Greeff.) Um ein leichteres Eindringen der Fixationsflüssigkeit zu erzielen, zerlegt man den Sehnerven in kleine Abschnitte von ½—1 cm Länge. Durch die Scheide eines jeden Stückes zieht man am okularen Ende einen dünnen Faden und nummeriert die einzelnen Fäden oder Stückchen, so dass der Sehnerv in seinem ganzen extrabulbären Verlauf in eine fortlaufende Serie von Querschnitten zerlegt werden kann, ohne dass Verwechselungen eintreten. Man kann auch so verfahren, dass man bei der Zerschneidung des Sehnerven in kleine Stücke, diesen nicht ganz durchtrennt, sondern an der medialen Seite eine Brücke Dura stehen lässt, damit die einzelnen Segmente durch diese im Zusammenhang erhalten werden. Bei allen diesen Prozeduren hüte man sich aber vor einer Quetschung des Sehnerven! s. S. 4. Den intraokularen Teil des Sehnerven untersucht man an Längsschnitten. Kommt es einem nur auf die Elemente des Sehnerven selbst an, so tut man gut, die Sehnervenscheiden von dem Optikus abzupräparieren. bevor man denselben in die Fixierungsflüssigkeit bringt. Als solche ist die Müller-

sche Flüssigkeit oder Formol-Müller zu empfehlen. Die Einbettung erfolgt am besten in Celloidin, doch ist auch Paraffineinbettung möglich. Zum Färben der Schnitte gebrauche man die Färbung mit Eisenhämatoxylin-van Gieson: Die Kerne erscheinen blau-grau-schwarz bis tiefschwarz, Achsenzylinder rot, Markscheiden gelb, normale und gewucherte Glia tiefrot, Ganglienzellen blassrot.

1. **Optikusfasern.** Eine Isolierung derselben gelingt nur ziemlich schwer, da dieselben keine Schwann'sche Scheide haben. Das Nervenmark zerbröckelt daher leicht, und die dünnen Achsenzylinder werden eingerissen. Am besten gelingt nach Schwalbe die Isolierung nach Anwendung dünner Chromsäurelösungen ($^1/_{30}$—$^1/_{40}$ proz.) oder von 10 proz. Kochsalzlösung; doch muss das Gewebe ganz frisch in die Flüssigkeit eingelegt werden. Auf diese Weise isolierte Achsenzylinder zeigen meist Varikositäten. Ohne solche Entstellungen als feine glattrandige Fäden gewinnt man sie dagegen, wenn man dicke Längsschnitte eines Sehnerven in Silbernitratlösungen von 1:800—1000 mazeriert. An Isolationspräparaten erkennt man auch die Verbindung und spitzwinklige Teilung der Nervenbündel besser als an Längsschnitten: Zu diesem Zwecke maceriere man dicke Längsschnitte nach Tinktion mit Karmin einige Tage in angesäuertem Glyzerin. Es lösen sich dann beim Zerzupfen der Stückchen die Bündel ziemlich leicht aus dem Bindegewebe heraus (Schwalbe).

Darstellung der Nervenfasern nach der Golgi'schen Methode (S. 114). Färbung der Primitivfibrillen nach der Methode von Bethe und Mönkeberg (S. 104) und Lugaro (S. 107).

Zum Studium frischer Degeneration dient die Marchi'sche Methode (S. 102), bei Sehnervenatrophie die Weigert'sche Markscheidenfärbung (S. 99).

2. **Glióse Zwischensubstanz.** Isolierung der Gliazellen durch Injektion von 2 proz. Osmiumsäure in den Sehnerven, Ausschneiden und Zerzupfen (Ranvier), oder Fixierung in 1 proz. Osmiumsäure, Maceration in Wasser, Zerzupfen. (Kuhnt.) Von einem in Müller'scher Flüssigkeit fixierten und in Alkohol gehärteten Sehnerven werden dicke longitudinale Schnitte angefertigt und dieselben mehrere Tage lang in Pikrokarmin, Ammoniumkarmin oder Methylenblau gefärbt. Darauf wird der Schnitt in Glyzerin zerzupft oder in $^1/_3$ proz. Alkohol maceriert (Petrone). Auf Schnitten von in Müller'scher Flüssigkeit fixierten Präparaten

sieht man den Zellleib nach Färbung mit saurem Karimin, Pikrokarmin, Hämatoxylin.

Darstellung der Spinnenzellen mit der Golgi'schen Methode. Dieselben färben sich im Sehnerven viel leichter als in der Netzhaut. Aber auch hier finden sich die Zellen meist nur in der Peripherie des Nerven imprägniert, weil die zur Färbung benutzten Flüssigkeiten nur schwer in die Tiefe dringen. Man entfernt daher am besten vorher die Duralscheide. Pathologische Veränderungen der Neurogliazellen, die mit dieser Methode dargestellt werden, sind mit der allergrössten Vorsicht aufzunehmen.

Färbung mit der Weigert'schen Neurogliamethode (S. 110), der Methode nach Mallory (S. 113) und Held (S. 130). Die pathologische Neuroglia färbt sich leichter und besser als die normale. (Schaudigel.)

3. **Bindegewebiges Septum.** Zur Isolation desselben maceriere man einen Nerven einige Zeit in sehr dünner Chromsäurelösung ($^1/_{40}$ proz.), fertige dann dicke Quer- und Längsschnitte mit dem Gefriermikrotom an und befreie durch sanftes Streichen mit der Präpariernadel das starre Bindegewebsgerüst von den weich gewordenen Nervenfasern. Untersuchung der Querbalken an Längsschnitten. (Schwalbe.)

Elastische Fasern, s. S. 134.

Mit dem Bindegewebe eindringende, von den Ciliarnerven abstammende Nerven kann man durch Maceration des Sehnerven in 3 proz. Essigsäure darstellen. (W. Krause.) Dieselben sind durch den Besitz von Schnürringen ausgezeichnet, welche den Optikusfasern fehlen.

Anm. Völlig bindegewebslos ist der Sehnerv von Chimaera monstrosa. Der Optikus der Teleostier ist bandartig. Der Sehnerv des Stöhr besteht aus einer S-förmigen Falte. Mehrere Falten finden sich beim Salm, Scholle, Weissfisch. Beim gefleckten Salamander finden sich mehrere parallele Zellstränge von Neuroglia abwechselnd mit streng davon gesonderten Nervenfaserbündeln. Bei den Schildkröten ist der Sehnerv rinnenförmig zusammengelegt. Bei den Sauriern finden sich neurogliale Septen. Der Sehnerv der Schlangen besteht aus zahlreichen geschlossenen Bündeln. Der Sehnerv der Vögel ist meist bandartig. Der Sehnerv der Säugetiere ist stets durch bindegewebige Septen abgeteilt. (Deyl. Studnizka).

4. **Optikusscheiden.** Das Endothel der Lymphkapillaren kann man darstellen durch Zerzupfen am frischen Präparat (v. Michel) oder nach Maceration in 3—5 proz. Kal. bichrom. (einige Tage) oder nach Fixation in 1 proz. Osmiumsäure und darauf

folgender Maceration in $^1/_3$ Alkohol oder verdünntem Glyzerin. (Kuhnt.)

Isolierung des den Supra- und Intravaginalraum auskleidenden Endothelüberzuges nach Maceration in Müller'scher Lösung (Schwalbe, Kuhnt). Versilberung durch ¼ proz. Silbernitratlösung.

Das elastische Gewebe der Duralscheide stellt man dar durch Einlegen in Kalilauge (mehrere Tage) und Zerzupfen (Sattler). Färbung nach Unna-Taenzer, Weigert, oder mit der Silberimprägnationsmethode von Tartuferi (S. 173).

Arachnoidea. Beim Ablösen der Duralscheide vom Sehnerven bleibt dieselbe an der Duralscheide.

Lamina cribrosa. Als siebförmig durchlöcherte Platte erhält man dieselbe nach Maceration der durchtretenden Nervenfasern.

Färbung mit Karmin und Pikrinsäure. Die rot gefärbten Bindegewebszüge heben sich dann scharf von den gelben Nervenfaserbündeln ab. (Wolfring.)

Darstellung der elastischen Fasern.

Corpora amylacea, finden sich konstant beim Hund und der Katze (vgl. S. 147). Sie färben sich mit Hämatoxylin blau, mit Lugol'scher Lösung gelb, mit Jod- und Schwefelsäure blau.

Chiasma. Untersuchung an Horizontal- und Frontalschnitten. (Bernheimer.)

Anastomosen der Optikusfasern nachweisbar beim Kaninchen mit der Ehrlich'schen Methylenblaumethode, bei der Katze mit der Golgi'schen Methode.

Anm. Bei den Fischen (z. B. Hecht) ziehen die Optici übereinander hinweg, ohne sich zu durchkreuzen. Beim Hering tritt der Optikus des rechten Auges ungeteilt durch einen Schlitz im Optikus des linken Auges, beim Brassen (Abramis) spalten sich beide Nerven bei der Durchkreuzung. Bei den Selachiern kommt neben der totalen Überkreuzung die bündelweise Durchkreuzung vor. Bei den Amphibien ist die Überkreuzung der Optici eine totale: Es erfolgt eine Auflösung in zahlreiche Bündel, die sich wie ein Mattengeflecht durchwirken. Bei Reptilien und Vögeln kreuzen sich die Optici stets total; bei Reptilien kommen noch bündelweise Kreuzungen vor, bei Vögeln findet sich nur die blätterförmige Überkreuzung. Bei den Säugetieren ist die Durchkreuzung ebenfalls bündelweise, aber unvollständig. Das ungekreuzte Bündel (das sich mit Hülfe der Degenerationsmethode darstellen lässt) bildet beim Kaninchen einen äusserst dünnen Faden, der stärker beim Hund und noch stärker bei der Katze ist. Bei Maus und Meerschweinchen besteht eine totale Kreuzung der Nervenfasern.

Literatur.

Bernheimer, Graefe-Sämisch. II. Aufl. Bd. I. Kap. 6. — Deyl, Bull. intern. de l'Acad. des sc. de l'emp. François Joseph I. Prague 1895. — Greeff, Arch. f. Augenheilk. Bd. 29. 1894. — Anleit. z. mikrosk. Untersuch. d. Auges. — Kallius, Nachr. d. Kgl. Ges. d. Wissensch. u. d. Georg-Augusts-Univ. z. Göttingen. 1892. — Kuhnt, Arch. f. Ophth. Bd. 25. III. — v. Michel, Arch. f. Ophth. Bd. 18. 1872. — Petrone, Intern. Monatsschr. f. Anat. Phys. Bd. 5. 1888. — Ranvier, Traité techn. 1898. — Sattler, Arch. f. mikr. Anat. 1896. — Ber. d. ophth. Ges. Heidelberg 1896. — Schaudigel, Arch. f. Ophth. Bd. 59. 1904. — Schwalbe, Ber. d. Kgl. Sächs. Ges. d. Wiss. 1872. — Graefe-Sämisch. I. Aufl. Bd. I. — Studnizka, Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. 24. 1898. — Wolfring, Arch. f. Ophth. Bd. 18. 2.

Fünfzehntes Kapitel.

Die Linse und Zonula Zinnii.

Die Anfertigung von Schnitten durch die ganze Linse ist mit grossen Schwierigkeiten verknüpft, wenigstens bei erwachsenen Tieren und älteren Foeten, da sich der Kern derselben nicht durchtränkt und so hart ist, dass er dem Mikrotommesser beträchtlichen Widerstand leistet. Der Kern ist es auch, der sich nach dem Tode zuerst zu trüben pflegt, er ist schon milchweiss und völlig undurchsichtig, wenn die Rinde noch völlig intakt erscheint. Legt man eine Linse in Alkohol, so zeigt sich umgekehrt die Rinde opak und weiss, während der Kern gelb und hornartig durchscheinend bleibt. Die Vögel haben eine sehr weiche Linse, während die Linse der Fische so fest und wasserarm ist, dass der Kern beim Trocknen nicht einmal trüb wird.

Die meisten Fixationsmittel haben den Nachteil, dass in ihnen der Kern noch härter wird, so dass es nur schwer gelingt, eine kontinuierliche Reihe gleichmässig dünner Schnitte zu erhalten. Fixation nach Rabl mit Sublimat-Platinchlorid (konz. wässerige Sublimatlösung, 1 proz. Platinchloridlösung $\overline{aa}$ 1, Aq. dest. 2) oder Sublimatpikrinsäure, oder Flemming'scher Lösung. v. Hippel empfiehlt die Birch-Hirschfeld'sche Flüssigkeit und Formol-Müller (s. S. 39). Auch Formol in schwacher Konzentration (2—3—4%) eignet sich zum Fixieren. (Kiribuchi, Halben.) Dasselbe bietet auch den Vorteil, dass die Linse dadurch nicht getrübt wird, so dass man ihre Veränderungen gut untersuchen kann. Um eine Verletzung der Kapsel

bei der Herausnahme der Linse zu vermeiden, fixiert man den ganzen Bulbus, nachdem je ein Einschnitt in den hinteren Augenpol und in die Hornhaut gemacht ist. Dann wird die Linse herausgenommen und langsam gehärtet. In absol. Alkohol und in Äther-Alkohol darf sie aber nicht länger als je ½ Stunde verweilen. Wenn man diese Vorsichtsmassregel beachtet, und dann in Celloidin (11 Tage lang) einbettet, so gelingt es ohne Schwierigkeit, Schnitte anzufertigen. (D e m a r i a.)

Auch Paraffineinbettung ist möglich, wenn man nach R a b l Schnitt für Schnitt mit einem frischen Überzug heissflüssigen Paraffins versieht. Man lässt zu diesem Zwecke ein kleines Porzellanschälchen mit heissflüssigem Paraffin in einer grossen Schale mit Wasser schwimmend über dem Bunsenbrenner stehen. Direkt vor jedem Schnitt wird mit einem Pinsel der Block frisch mit Paraffin überzogen. Es ist wichtig, dass dieser Überzug gleichmässig und sehr dünn ist. Man muss schnell und straff streichen, und vermeidet zu grosse Dicke am besten dadurch, dass man den Pinsel so klein wählt, dass er nur wenig Paraffin fasst und dass man auf einmal immer nur ganz wenig Paraffin im Schälchen hält. Um ein starkes Einrollen der Schnitte zu vermeiden, wählt man das zum Überstreichen verwendete Paraffin von etwas niedrigerem Schmelzpunkt als dem des Blockes. Auch erleichtert man sich die Streckung des Schnittes dadurch, dass man den Pinsel beim Überstreichen in der Richtung gegen das Messer führt. Dabei kann man leicht am Ende des Überstriches eine kleine Anschwellung des Häutchens entstehen lassen, in der die Nadel, von der linken Hand geführt, einen guten Insertionspunkt findet, während die rechte sehr flott und gleichmässig schneiden muss.

Diese feinen Schnitte lassen sich nicht mit den gewöhnlichen Aufklebemethoden weiter verarbeiten, da die einzelnen Partikel des Schnittes zu lose untereinander zusammenhalten und zu mangelhaft am Objektträger haften. Man benutzt hierzu vorteilhaft nach H a l b e n die A l t m a n n 'sche Methode der Aufpinselung mit alkohol. Aceton-Schiessbaumwolllösung auf kautschuküberzogene Objektträger (s. S. 72).

Um die Linse in situ mit dem ganzen Bulbus zu schneiden, bettet man denselben in Celloidin ein, und schneidet mit dem Mikrotommesser so lange, bis die obere Kuppe der Linse abgeschnitten ist. Dann entfernt man das Celloidin durch Alkohol-Äther und bettet von neuem ein.

Bei sehr harten Linsen (z. B. bei alten Fischen) ist eine Ein-

bettung überhaupt nicht möglich. Man muss dann den Kern vor dem Einbetten entfernen.

Becker empfiehlt zur Linseneinbettung auch die Einbettungsmasse nach Calberla-Ruge (S. 62). Mit derselben sollen sich feinere Schnitte herstellen lassen, als mit dem Celloidin.

Zur Fixierung der Linsenform, entsprechend dem jeweiligen Akkommodationszustande, dient die Gefriermethode mit Kohlensäure (v. Pflugk) oder mit flüssiger Luft (F. Fischer).

Anfertigung von Meridional- und Äquatorialschnitten. Färbung mit Alaunkarmin, Hämatoxylin, Eosin, Anilinfarben u. s. w. ist möglich.

1. Zur Untersuchung der **Linsenkapsel** und des **Epithels** dienen Flächenpräparate und Schnittpräparate.

Erstere eignen sich zum Studium der Kapselkatarakte und der Beteiligung der Kapselzellen an derselben, ferner zum Studium des Wachstums der Linse, speziell der Beobachtung der Karyokinese (Becker). Ob die Kapsel sich leicht oder schwer von der Linse abziehen lässt, hängt von dem Alter und der Behandlungsweise der Linse, resp. der Katarakte ab. Bei Embryonen, z. B. vom Rind, gelingt es nach Becker oft nur sehr schwer, mit der Kapsel auch die Epithelschichten von der Linse zu trennen. Die Beobachtung des Epithels wird meist noch dadurch erschwert, dass die Gefässe der Pupillarmembran aussen anhaften.

Zur Isolierung der Linsenkapsel wird der Bulbus im Äquator halbiert. Mit einem vorsichtigem Scherenschlag geht man dann vom Äquator aus bis an den Linsenrand und umschneidet denselben, so dass von dem Bulbus nur Cornea, Iris, Linse und etwas daran haftender Glaskörper übrig bleibt. Dann wird die Linse auf die Glaskörperseite gelegt, auf eine Unterlage von Fliesspapier, und Cornea und Iris abgehoben. Wenn man diese vorsichtig mit 2 Pinzetten am Pupillenrande fasst und einreisst, gelingt es nach einiger Übung, die Linse völlig frei zu präparieren, ohne dass ein einziges Instrument die Linsenkapsel berührt hätte. Die so freipräparierten Linsen werden dann vorsichtig an dem Glaskörperrest gefasst und nach Pflugk in 3½ proz. Salpetersäure für 30 Minuten (nach Rabl kommen sie frisch oder nach Fixation in Müller'scher Flüssigkeit oder Chromsäure in Alkohol absol.) gelegt. Nach kurzem Abspülen kommen sie in absol. Alkohol auf die gleiche Zeit und darauf kurze Zeit in Wasser, wodurch die Linsenkapsel meist blasenförmig von dem zu einem weissen Kern

geschrumpften Linseninhalt sich abhebt. Die jetzt fixierte Linse wird nun in die von den Spitzen von Daumen, Zeige- und Mittelfinger der linken Hand gebildete kleine Höhlung gelegt, so dass die Gegend des vorderen Linsenpols freiliegt. Mit einem Rasiermesser wird dann durch einen Kreuzschnitt die hintere Linsenkapsel geöffnet und bis in die Äquatorgegend durchgeschnitten. Die 4 so entstandenen Zipfel der Linsenkapsel werden mit feingezähnter Pinzette nach dem vorderen Linsenpol zu umgeschlagen, vom Linseninhalt vorsichtig abgehoben und die am Äquator meist anhaftenden Reste der Linsenfasern durch Umschütteln im Wasser entfernt. Dann Färbung: Boraxkarmin, Alaunkarmin, Hämatoxylin Hansen (2 — 10 Minuten), Delafield, Eosin, Bismarckbraun, Benda-Heidenhain u. s. w. — Wenn man die so gefärbten und für Dauerpräparate vorbereiteten Linsenkapseln dann ausbreitet, ist es möglich, eine überraschend gute Übersicht über die Linsenkapsel mit ihrem Zellbelag zu erhalten. Schwache Vergrösserung gibt dann ausgezeichnete Übersichtsbilder, so dass es möglich ist, die verschiedenen Arten der Linsenepithelzellen genau zu übersehen und nach Nekrosen, Mitosen u. s. w. zu forschen.

Will man die Linsenkapsel ohne Epithel haben, so breite man die abgezogene Kapsel auf Filtrierpapier oder auf einem kuppenartigen gläsernen Knopf so aus, dass mit einem Pinsel das Linsenepithel abgewischt werden kann. Allenfalls anhängendes Glaskörpergewebe oder Aderhautpigment entferne man mit Filtrierpapier (Michel und Wagner). Schnittpräparate der isolierten Linsenkapsel fertige man nach den allgemein gültigen Regeln an.

Einen lamellären Bau der Linsenkapsel kann man auf folgende Weise nachweisen (Berger, Schirmer, Chittenden):

1. Durch Zerzupfen der Linsenkapsel nach mehrtägiger Maceration in Kal. hypermangan (0,1 proz.). Die Rissränder werden nicht geradlinig, sondern treppenförmig. (In stärkeren Lösungen werden die Kapseln bröckelig und lassen sich nicht mehr bearbeiten, in schwächeren lassen sich die Lamellen nicht genügend trennen).

2. Durch Maceration in Kalkwasser oder 10 proz. Kochsalzlösung (mehrere Wochen).

3. Färben der Linsenkapsel mit Goldchlorid und 2—3 tägige Maceration in einer aus Salzsäure, Glyzerin und dest. Wasser bestehenden Flüssigkeit.

4. Behandeln mit Arg. nitr. längere Zeit. Durchschnitte anfertigen.

5. Behandeln mit stärkeren Salpetersäurelösungen (20 proz.).

6. Anfertigung feiner Dickendurchschnitte mit dem Gefriermikrotom und Behandeln derselben mit der Verdauungsmethode.

Anm. Eine Schichtung ist zu erkennen beim Pferd, Fuchs und Haifisch. Eine sehr dicke Kapsel findet sich bei Balaenoptera physalus. Sehr dünn ist die Kapsel bei den Reptilien und Vögeln.

2. Zur Untersuchung des **Linsenepithels** bringe man die Linse (Frosch) mit unverletzter Kapsel auf 2 Stunden in ½ proz. Arg. nitr.- Lösung und untersuche die abgezogene Kapsel nach erfolgter Reduktion in Glyzerin. Auch Behandlung mit ½ proz. Osmiumsäure (Methode von Nuel und Cornil cf. S. 187). Färbung mit Pikrokarmin, Hämatoxylin und Fuchsin.

Anm. Eine eigenartige Umbildung des Linsenepithels stellt der Ringwulst der Sauropsidenlinsen dar; beim Alligator, Schildkröte, bei Lacerta viridis, am stärksten beim Chamäleon. Bei den Schlangen findet sich kein Ringwulst. Dagegen bei den Vögeln (Habicht, Lerche, Schwalbe).

Um das Verhältnis des Ringwulstes zur übrigen Linsenfasermasse zu ermitteln, zeichne man den Schnitt auf Papier ab, schneide die betreffenden Teile aus und wäge sie einzeln. (Rabl.)

3. **Linsenfasern.** Zur Isolation derselben dienen folgende Macerationsmethoden:

1. Isolation mit $^1/_3$ Alkohol. Frische Linsen von Säugetieren, Fischen u. s. w. kommen auf 2 Stunden in $^1/_3$ Alkohol, dann eröffne man die Linsenkapsel durch Anstechen, und lasse die Linsen noch weitere 24 Stunden oder länger in dem Alkohol liegen. Man kann die Linse mit Leichtigkeit in schalenförmige Stücke zerlegen. Diese werden auf dem Objektträger in Glyzerin zerzupft, und nach Pikrokarminzusatz eingelegt und umrandet.

2. Salzsäure, Schwefelsäure oder Salpetersäure in einer Konzentration von 1: 100—200. (Moriggia, Becker.)

Diese beiden Methoden sind sehr zu empfehlen. Von den vielen anderen angegebenen Methoden erwähne ich noch:

3. Argentum nitricum 1: 600—1000 (Robinski).

4. Kal. chlorat. 1,0, Acid. nitr. 3,0. An frischen Linsen wirkt das Reagens in 1—2 Minuten, bei schon etwas getrockneten erst in 4—5 Minuten. (Fubini.)

5. Verdünnte Osmiumsäure 0,1 proz. Die Linsen zerfallen zunächst in Lamellen, später in einzelne Fasern, welche letztere wieder in feine Fibrillen sich spalten. (Arnold.)

6. Goldchloridlösung ¼ proz. und lauwarm. Dieselbe wird in die Blutgefässe injiziert. 10 Minuten nach der Injektion werden die Augen herausgenommen, auf die Dauer von 15 Minuten in eine ½ proz. Goldlösung gelegt und dann in eine Mischung von Wasser und Glyzerin. Nach 24 Stunden wird die Linse herausgenommen, in Hämatoxylin gefärbt, und die Linsenfasern durch Zerzupfen in Glyzerin oder Einwirkung starker Kalilauge isoliert. (Thin und Ewart.)

Die Linse kommt auf 20—24 Stunden in eine $^1/_{40}$—$^1/_{20}$ proz. Chlorgoldlösung, dann wird sie in Wasser ausgespült und in eine ½—1 proz. Lösung von Chlorzinn gebracht, wo sie in ½—1 Stunde sich braun färbt. (Lominski.)

7. Verdauung in künstlichem Magensaft. 1 g mit Alkohol behandelter und getrockneter Magenschleimhaut löst sich in 20 ccm 0,5—1 proz. Salzsäure bei Brutwärme in 3—4 Stunden. Vor der Maceration in der filtrierten Flüssigkeit kann man mit Pikrokarmin färben. Einwirkung von mehr als ½—1 Stunde zerstört das Protoplasma. (Bikfalvi.)

8. Formalin (4—10 proz.) Einwirkung 2 Tage lang, Übertragen für einige Stunden in 50—60 proz. Alkohol, zerzupfen in Wasser oder Glyzerin. Die Fasern lassen sich ihrer ganzen Länge nach isolieren. (Gebhardt.)

Eine feine Längsstreifung der Linsenfasern kann man beobachten, wenn man Linsen von Kaninchen einige Zeit lang mit Na. Cl.-Lösung 2 proz. behandelt und dann die Fasern durch dünne Salzsäure isoliert. (Moriggia.)

Zum Erkennen der Kittsubstanz der Linsenfasern verfertige man an gefrorenen Linsen Längs- und Querschnitte an und lege dieselben auf kurze Zeit in schwache Silberlösungen (1 : 800—1000). Die Randkontouren der Fasern erscheinen dann von braunen oder schwarzen Linien umsäumt. (Merkel.)

Durch Maceration (s. oben) oder andere ähnliche wirkende Eingriffe auf die Linse entstehen Blätter, die wie die Blätter einer sich eben öffnenden Blütenknospe über einander liegen. Der harte Kern nimmt meist an dieser Blätterspaltung nicht Teil. Diese **lamelläre Anordnung** der Linsenfasern tritt nach Robinski deutlich hervor, wenn man die Linsen auf 15—20 Minuten in eine schwache Lösung von Arg. nitr. 1 : 800—1000 legt und sie dann auf etwa 24 Stunden in schwach mit Salzsäure angesäuertes Wasser bringt. Noch besser tritt der lamelläre Bau hervor, wenn man die in der beschriebenen Weise behandelten Linsen trocknet. Nur der

Linsenkern spaltet sich nicht. Die Fischlinse lässt sich, nachdem sie gesotten ist, in lauter konzentrische Kugelschalen zerlegen.

Ebenfalls durch Maceration entsteht der **Linsenstern.** Spritzt man bei grösseren Linsen eine wässerige Lösung von preussisch Blau peripher unter die Linsenkapsel und spült den Überschuss der Farbe mit dest. Wasser fort, so erscheint die Sternfigur tiefblau. Legt man die frische Linse mit der Kapsel 24 Stunden in Arg. nitr. 1:500—1000, so wird die Oberfläche schokoladenartig, die Sternfigur intensiv schwarz. (Fridenberg.) Fast momentan färbt sich die vordere Linsennaht (Kaninchen) weisslich bei Einlegen in Salpetersäure.

Anm. Schildkröten, Eidechsen und Vögel haben keine Linsennähte. Eine vordere vertikale und hintere horizontale Naht findet sich bei Selachiern, Amphibien und einigen Reptilien (Alligator). Eine einfache lineare Naht kommt vor beim Delphin und Hasen, dreistrahlige Sterne beim Seehund und Bären, verwickeltere Sterne bei Balaenoptera.

Um Querschnitte der Linsenfasern zu erhalten, kann man die ganze Linse einbetten und schneiden. Da dieses aber mit Schwierigkeiten verknüpft ist, so verfahre man auf folgende Weise: Man lege eine Linse auf 24—48 Stunden in 0,05proz. Chromsäure. (Damit die Linse nicht anklebt, lege man sie auf etwas Watte.) Dann spalte man dieselbe mit Nadeln in schalenförmige Stücke, bringe sie auf weitere 10—15 Stunden in die Chromsäurelösung zurück und härte sie dann in Alkohol von steigender Konzentration. Jetzt schneide man mit einer Scheere die Schalen in der Gegend des Äquator durch und bette dieselben entweder in Celloidin ein oder klemme sie so in Leber ein, dass die ersten Schnitte die dem Äquator zunächst liegende Zone treffen. Die Schnitte werden auf den Objektträger gebracht und in verdünntem Glyzerin (5,0 Glyzerin, 25,0 dest. Wasser) konserviert. (Stöhr.)

Anm. Der Linsenfaserquerschnitt zeigt die Gestalt eines etwas abgeplatteten Sechseckes bei Selachiern, Amphibien und bei verschiedenen Vertretern der anderen Wirbeltierklassen. Sehr regelmässig ist die Form dieser Linsenfaser bei der Gemse und den kleinen Nagern. Auch der Alligator, die Eidechsen, Nachtraubvögel und Papageien haben ganz regelmässig gebaute Linsen. Unregelmässige Fasern finden sich beim Chamäleon, dem Mauersegler, dem Pferd, dem Affen und Menschen.

Pathologische Histologie der Linse.

Katarakt wird mit Vorteil an ungefärbten in Glyzerin eingelegten Schnitten untersucht. Färbung mit den gewöhnlichen Farbstoffen.

Anm. 1. Das Verhalten der getrübten Linse gegen Farbstoffe ist übrigens ein Kapitel, das noch sehr der Aufklärung bedarf. So sollen z. B. nach Hess die in vivo durchsichtigen Linsenteile den Farbstoff (Alaunkarmin) annehmen, die getrübten so gut wie vollkommen ungefärbt bleiben (Fixierung in Salpetersäure). Derselbe Autor beschreibt das Verhalten bei Cataracta zonularis folgendermassen: Der Inhalt der Hohlräume des Kernes nimmt den Farbstoff wesentlich stärker an als die Umgebung und erscheint daher dunkelviolett auf hellem Grunde; der Inhalt der Hohlräume in den perinuklearen Schichten färbt sich viel schwächer als die Umgebung und erscheint zum grossen Teil fast farblos auf violettem Grunde. (Fixierung in Alkohol. Färbung mit Grenachers Hämatoxylin.) Nach Schirmer färben sich beim Schichtstar Starschicht, Kerne und Corticalis ganz gleichmässig. (Müllersche Flüssigkeit; Hämatoxylin, Eosin, Pikrolithionkarmin, Jod, Osmiumsäure, Anilinfarben.) In einem Falle gelang es ihm, durch kurzes Färben mit Hämatoxylin und nachheriges Abspülen in Wasser eine tief dunkelblau gefärbte Starschicht auf schwach blau gefärbtem Grunde zu erhalten. Bei der Cataracta diabetica färbt Alaunkarmin nach Becker das ganze Präparat gleichmässig, lässt die Kerne aber fast gar nicht hervortreten. Auch Hämatoxylin färbt fast gleichmässig Zell- und Kernsubstanz. Bei der Cataracta senilis praematura punctata färben sich die punktförmigen graugrünen Trübungen kaum mit Alaunkarmin, sehr gut mit Hämatoxylin, wenig mit Eosin. Schöne Bilder mit Hämatoxylin-Eosin. Bei der Cataracta punctata congenita färben sich die Trübungen nicht. (Hess.) Die Färbung der Cataracta nigra vollzieht sich nur mit grösster Schwierigkeit. Es sind 24 Stunden nötig, um einige Schnitte mit Hämatoxylin und Eosin oder mit Lithionkarmin färben zu können. (Speciale-Cirincione.)

Anm. 2. Die Linsen junger Tiere zeigen häufig eine natürliche zentrale Trübung, die am leichtesten an der Linse des Kalbes, aber auch junger Katzen (bis zur 6. Woche) und, wenn auch nur eben angedeutet, bei dem Schwein sichtbar ist. Diese Trübung ist nicht physiologisch vorhanden, denn sie verschwindet vollständig, wenn man die Temperatur der Linse auf einen gewissen Wärmegrad bringt, z. B. indem man das Auge in der geschlossenen Hand hält. Man kann diese Erscheinung wiederholt an derselben Linse zur Anschauung bringen, unabhängig davon, ob man die Abkühlung durch Auflegen der Linse auf eine kalte Unterlage, Verdunsten aufgegossenen Alkohols oder Einlegen in kaltes Wasser erzeugt. (Michel.)

Ein der Naphthalinlinse ähnliches Bild (die äquatoriellen Einkerbungen samt der vorderen und hinteren Linsennaht) erhält man, wenn man einer normalen Linse im Wärmeofen das Wasser entzieht. Ebenso durch Behandlung mit Salpetersäure oder wasserfreiem Glyzerin. (Magnus.)

Um etwa vorhandenes Naphthalin in Naphthalinlinsen nachzuweisen, kann man nach Magnus auf folgende Weise verfahren: Die Linsen werden im Wärmeofen (bei 90° 24 Stunden) getrocknet, dann pulverisiert und mit siedendem absol. Alkohol ausgezogen. Man filtriert dann heiss, lässt abdunsten und behandelt mit Pikrinsäurealkohol. Neben zahlreichen Pikrinsäurekristallen findet man feine lange, gelbe Nadeln,

die sich bei Alkoholzusatz nicht lösen, also wohl als Naphthalin-Pikrinsäure C_{10} H_8 C_6 H_2 $(NO_2)_3$ OH anzusprechen sind.

Kalk in überreifen Katarakten s. S. 152.

Cholestearin s. S. 141.

Lithion carbonicum ist 30 Minuten nach der Fütterung (bei kataraktösen Linsen nach 2½—3 Stunden) in der Linse dadurch nachzuweisen, dass man eine Spur der Linsenmasse mittelst eines Platindrahtes in die Flamme eines Bunsenbrenners bringt: es verbrennt mit karminroter Farbe. Bei Anwesenheit von Natrium beobachtet man durch eine dünne Schicht Indigolösung.

Jodkalium. Zum Nachweis desselben (nach subkonjunktivaler Injektion) in der Linsenkapsel träufelt man 15 Tropfen einer 2 proz. Lösung von Palladiumammoniumchlorür (Merck) auf die in einem Uhrgläschen liegende isolierte Linse, spült nach 5 Minuten das Reagens mit einem kräftigen Strahl Aq. dest. ab und betrachtet die Linse unter dem Mikroskop. Bei Anwesenheit von Jod entsteht ein schwarzer Niederschlag. Legt man die Linse in überschüssige 5 proz. Jodkaliumlösung, so tritt im Verlaufe einiger Stunden die P.-Reaktion wieder zurück, und die Linsenoberfläche erscheint zart gelblich. (v. Pflugk.)

Zonula Zinnii.

Eine richtige Vorstellung von der Lage der einzelnen Bestandteile in der Linse, besonders in Katarakten, kann man nur dann gewinnen, wenn die Linsen in ihrer natürlichen Verbindung mit dem Corpus ciliare durch die Zonula Zinnii eingebettet und geschnitten werden können. Dazu muss der Einbettung eine besondere Präparation vorhergehen: Man halbiert dazu den Augapfel, trägt die Cornea ab, schneidet die Iris radiär ein und entfernt sie vollständig mittelst einer Pinzette durch totale Iridodialyse, spült dann den Glaskörper mittelst eines feinen Wasserstrahles ab und schneidet die Sklera mit der Scheere ringsum soweit ab, dass nur ein einige Millimeter breiter Ring übrig bleibt, an welchem innen das Corpus ciliare festsitzt und in welchem die Linse mittelst der Zonula Zinnii freischwebend aufgehängt ist. (Becker.)

Dieses ist auch eine vorzügliche Methode, um den Petitschen Kanal, die Zonula Zinnii und ihre Anheftung an die Linse zu demonstrieren. Den Canalis Petiti kann

man am eröffneten Auge durch Einblasen von Luft in den Kanal sofort anschaulich zu machen. Injektionen von Berliner Blau zeigen ihn noch besser in seinem ganzen Umfange. Auch durch Einstich-Injektion in die vordere Augenkammer mit Berliner Blau oder Karminleim lässt sich der Petit'sche Kanal teilweise füllen. Es gelingt dies an erwärmten Augen sogar mit geschmolzenem Paraffin. Am geeignetsten sind dazu Menschen- und Schweineaugen, schwieriger gelingt es beim Hund und Kaninchen. Nach der Injektion bringe man die Augen 24 Stunden lang in Alkohol und öffne dann den Bulbus. Es lassen sich dann Glaskörper, Linse und Zonula sehr leicht vom Corpus ciliare ablösen, so dass man den gefüllten Petit'schen Kanal unverletzt erhält. (Schwalbe, Merian.)

Zur Isolierung der Zonula Zinnii seien noch einige Methoden erwähnt: Ulrich empfiehlt an frischen Schweineaugen die Cornea und Iris abzutragen und die Bulbi dann in sehr wässerigem Alkohol zu macerieren. Nach einigen Tagen gelingt die Isolierung leicht. Aeby empfiehlt die Methode der freiwilligen Maceration des Auges. Für frische Tieraugen genügt durchschnittlich ein Liegenlassen während 2—3 Tage bei mittlerer Temperatur. Man kann dieselbe nach ihm in 3 verschiedenen Formen zur Darstellung bringen:

1. Im Zusammenhang mit Glaskörper (Hyaloidea) und Linse (Kapsel) durch schwache Fäulnismaceration.

2. Im Zusammenhang mit dem Glaskörper (Hyaloidea) allein durch weiter fortgeschrittene Fäulnismaceration.

3. Völlig isoliert und ausser jeglichem Zusammenhang mit Glaskörper und Linse durch Säuremaceration. (konzentr. Salzsäure oder Salpetersäure. 24 Stunden lang.)

Nach Czermak verfährt man so, dass man zuerst den ganzen vorderen Uvealtraktus mit der Linse isoliert (s. S. 196). Ist dies geschehen, so dreht man ihn um, dass die Iris nach oben sieht, fixiert ihn mittelst durch die Randteile der Chorioidea gesteckter Nadeln, fasst mit einer Pinzette vorsichtig den Pupillarrand und schneidet vorerst die Iris quer bis zu ihrer Insertion durch und hierauf längs dieser vom Ziliarkörper vollständig ab. Man kann auch einfach die Iris packen und Dialysis machen. Alle diese Manipulationen gehen sehr leicht von statten, man braucht nichts zu zerren oder zu drücken.

Die intensivste Färbung der Zonula Zinnii erhält

man bei der Behandlung mit Orcein, Saffranin, Viktoriablau und Jodviolett, ferner auch durch Fuchsin, Aurantialösung, mit der Mallory'schen Hämatoxylinmethode (Salzmann), mit der Weigert'schen Neurogliafärbung (Agababow) und der Held'schen Protoplasmamethode (Wolfrum). Die Fasern derselben lassen sich von den Fasern der Membrana hyaloidea dadurch unterscheiden, dass bei der Färbung mit Säurefuchsin die Zonulafasern sich intensiv rot, die Hyaloideafasern violett färben. (Topolanski.)

Literatur.

Aeby, Arch. f. Ophth. Bd. 28. I. — Agababow, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 50. 1897. — Barabaschew, Arch. f. Ophth. Bd. 38. III. 1892. — Becker, Zur Anatomie der gesunden und kranken Linse. 1883. — Berger, Centralbl. f. prakt. Augenheilk. 1882. — Arch. f. Ophth. Bd. 28. II. 1882. — Bikfalvi, Centralbl. f. d. med. Wiss. No. 46. 1883. — Chittenden, Untersuch. d. physiol. Inst. Heidelberg. Bd. 3. 1880. — Czermak, Arch. f. Ophth. Bd. 31. I. — Demaria, Arch. f. Ophth. Bd. 59. — Fischer, Arch. f. Augenheilk. Bd. 56. 57. — Friedenberg, Arch. f. Augenheilk. Bd. 31. 1895. — Fubini, Moleschotts Untersuchungen zur Naturlehre. XI. 1873. — Halben, Arch. f. Ophth. Bd. 57. 1904. — Hess, Arch. f. Ophth. Bd. 39. I. 1893. — v. Hippel, Arch. f. Ophth. Bd. 65. 1907. — Kiribuchi, Arch. f. Ophth. Bd. 50. 1900. — Leuckart, Graefe-Sämisch. I. Aufl. Bd. 2. — Lominski, Russk. Arch. pathol., klin. med. i bakter. XI. 1901. — Magnus, Arch. f. Ophth. Bd. 36. IV. — Martinotti, Zeitschr. f. wiss. Mikr. IV. 1887. — Matthiessen, Deutsche med. Wochenschr. Bd. 38. 1885. — Merian, Arch. f. Anat. Phys. 1891. — Merkel, Graefe-Sämisch. I. Aufl. Bd. I. — Michel, Über natürliche und künstliche Linsentrübung. Festschr. z. 3. Säkularfeier d. Alma Julia Maximiliana. I. 1882. — Michel u. Wagner, Arch. f. Ophth. Bd. 32. II. — Moriggia, Moleschotts Untersuch. z. Naturlehre. Bd. 10. H. 6. — v. Pflugk, Über die Akkomodation des Auges der Taube. Habilitationsschrift. 1906. — Arch. f. Augenheilk. Bd. 57. — Arch. f. Ophth. Bd. 67. 1908. — Pütter, Graefe-Sämisch. II. Aufl. Bd. II. 1. Kap. X. — Rabl, Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 63. 65. — Morphol. Jahrb. Bd. 15. 1889. — Über den Bau und die Entwicklung der Linse. Leipzig. 1900. — Richter, Arch. f. Ophth. Bd. 22. II. — Robinski, Arch. f. Anat. Phys. 1870. — Salzmann, Die Zonula ciliaris und ihr Verhältnis z. Umgebung. Wien 1900. — Schwalbe, Lehrb. d. Anat. d. Sinnesorgane. — Arch. f. mikr. Anat. Bd. 6. 1870. — Schirmer, Arch. f. Ophth. Bd. 34. I. — Bd. 35. I. — Bd. 35. III. — Speciale — Cirincione, Arch. f. Augenheilk. Bd. 56. 1907. — Thinu, Ewert, Journ. of anat. a. phys. Vol. 10. 1876. — Ulrich, Arch. f. Ophth. Bd. 26. II. — Wagenmann, Arch. f. Ophth. Bd. 36. IV. — Wolfrum, Arch. f. Ophth. Bd. 69. 1908.

Sechzehntes Kapitel.

Der Glaskörper.

1. Glaskörperhäute und -fibrillen. Die Konsistenz des Glaskörpers ist in ganz frischem Zustande eine rein gallertartige, und es fliesst beim Durchschneiden desselben nur wenig tropfbare Flüssigkeit ab. Erst durch Leichenveränderung, die freilich sehr früh eintritt, verflüssigt sich seine Substanz mehr und mehr, ebenso durch sehr lange fortgesetztes immer wiederholtes Einschneiden, bis zuletzt nur noch unbedeutende Reste festerer membranöser Massen zurückbleiben (M e r k e l). Im frischen Glaskörper lassen sich keine Faserzüge nachweisen; Alkohol und Chromsäure rufen dagegen leicht die Erscheinung von Fasern hervor. Auch bei der Behandlung mit essigsaurem Blei, salpetersaurem Silber etc. lassen sich Niederschläge hervorbringen. Man kann dieselben vermeiden, wenn man den Glaskörper zuvor so lange mit dest. Wasser auswäscht, bis durch essigsaures Blei kein Niederschlag mehr entsteht. Dann bleibt auf Zusatz von Alkohol etc. die Gallertsubstanz unverändert. Absoluter Alkohol in grosser Quantität macht dagegen die Gallerte zu einer durchsichtigen Membran schrumpfen, die auf Zusatz von Wasser wieder quillt (L i e b e r k ü h n).

Bei Behandlung des Glaskörpers von Fischen mit Chromsäure gestattet derselbe ein Abblättern in Schichten (H. V i r c h o w).

Bringt man den Glaskörper eines Schafauges 24 Stunden in Gummilösung und darauf in starken Alkohol, so wird er auf eine ¼ mm dicke Platte reduziert, die leicht in dünne Schnitte zerlegt werden kann. In Wasser gebracht quellen sie sehr stark auf bis zu 10 und mehr Millimeter und nehmen eine durchsichtige gelatinöse Beschaffenheit an. Nach 24 stündiger Anwendung von Osmiumsäure (1 : 50) zerfallen die Schichten bei leichtem Drucke in zahlreiche dünne Blättchen (H a c h e).

Um eine Trennung der festen Glaskörpersubstanz von der Flüssigkeit vorzunehmen, wird der Glaskörper ausgepresst. Man tut den Glaskörper eines Ochsenauges auf ein Stückchen Gaze (welches durch Waschen von Appretur befreit ist) und schlägt die Gaze über den Glaskörper zusammen, so dass sie ein Beutelchen bildet. Der Vorgang des Pressens kann ganz roh ausgeführt werden, und es ist nicht nötig, dass die Löcher der Gaze fein sind. Um sich von der Festigkeit des faserigen Rückstandes eine Vorstellung zu verschaffen, stelle man eine Belastungsprobe an (V i r c h o w).

Zur Sichtbarmachung der Fibrillen kann man das Auge auch längere Zeit mit dünner Chromsäure und dann ebenfalls längere Zeit mit einer sehr verdünnten Lösung von Goldchlorid behandeln. Es entsteht dabei ein feiner, an der Oberfläche der faserigen Teile liegender Überzug, der bei auffallendem Lichte sehr deutlich als goldiger Schein sichtbar ist (Virchow).

Um den Bau des faserigen Gerüstes an eingebetteten Augen zu studieren, beachte man, dass bei jeder Eröffnung des Bulbus vor Einlegung in die Fixationsflüssigkeit eine Retraktion des Glaskörpers stattfindet, da die Glaskörperfibrillen an der Stelle der Eröffnung ihres Haltes beraubt werden und sich nach der entgegengesetzten Seite zurückziehen. Eine ähnliche Retraktion findet auch noch statt, wenn der Bulbus nach dem Fixieren in Celloidin eingebettet wird. Am besten eignen sich daher zum Studium der Histologie des normalen Glaskörpers Augen aus der zweiten Hälfte des Fötallebens, die uneröffnet gehärtet und nach Abtragung ganz kleiner Kalotten in Celloidin eingebettet werden (Ginsberg).

Um den Bulbus ohne Schrumpfung des Glaskörpers unter Umgehung des Aufschneidens zu fixieren, dient die Methode v. Hippels. Von ganz frischen Schweineaugen wird unter Schonung der übrigen Membran die Sklera abpräpariert; kleine dabei entstehende Defekte in Chorioidea und Retina sind ohne Bedeutung. Die Bulbi werden nun in frisch gewonnenes Schweineblutserum gelegt und nach Aufstreuen von Thymolpulver auf die Oberfläche der Flüssigkeit 4 Tage in einem kühlen Raum aufbewahrt. Dann kommen sie für 3—4 Tage in Müller sche Flüssigkeit.

Anm. Der Glaskörper der verschiedenen Tiere unterscheidet sich sehr durch seinen Wassergehalt. Der Glaskörper bei Embryonen ist fester als der bei erwachsenen Tieren, der Glaskörper des Kalbes fester als der des Rindes. Eine zähe fadenziehende klebrige Beschaffenheit hat der Glaskörper beim Menschen, Affen, Fischen; einer schlüpfrigen kompressiblen Gallerte gleicht er beim Hunde, Ochsen.

Als Fixationsflüssigkeit empfehlen sich eine 3 proz. Bichromatlösung, eine 1—2 proz. Sublimatlösung, die Flemmingsche und Birch-Hirschfeldsche Flüssigkeit. Nach dem Fixieren ist eine sehr langsame vorsichtige Erhärtung in Alkohol (von 15—100 pCt.) und eine ebenso langsame Einbettung in dünnem Celloidin, (das man allmählich eindicken lässt), und zwar nach einseitiger Öffnung der Sklera, nötig.

Um die Glaskörperfibrillen an ungefärbten Celloidinschnitten sichtbar zu machen, zieht man aus denselben auf dem Objektträger mit grösster Vorsicht das Celloidin mit Alkohol-Äther aus und untersucht dann die Schnitte lufttrocken (Virchow).

Zur Färbung empfiehlt sich das Rubin (Retzius), da dieser Farbstoff das Celloidin nicht mitfärbt. Bei anderen Farbstoffen (Gentianaviolett, Säurefuchsin, Rosanilin, Dahlia, Bismarckbraun) ist eine vorherige Celloidinentfernung nötig, da dieses mitgefärbt wird.

Anm. Der Glaskörper von allen Kaltblütern, auch der Schlangen, nimmt alle Färbungen nur sehr schwer an. Karmin gibt eine matte und verwaschene Färbung. (Virchow).

2. Spalträume, die konzentrisch zur Oberfläche verlaufen, lassen sich nachweisen:

1. durch Äquatorialschnitte des Glaskörpers von Augen, die in dünner Müllerscher Flüssigkeit oder dünner Chromsäurelösung (mindestens ½ Jahr, besser aber 6—7 Jahre lang konserviert werden (Iwanoff, Hannover, Schwalbe).

2. durch Aufträufeln farbiger Flüssigkeiten auf die Schnittflächen des im Äquator halbierten Glaskörpers (Stilling);

3. durch Gefrierenlassen des Glaskörpers. Beim Auftauen lassen sich von der Oberfläche feine konzentrisch angeordnete Eisscheibchen abblättern (Brücke).

3. Centralkanal. Man kann denselben von drei Punkten aus füllen.

1. von hinten.

a) Von der frei präparierten Glaskörperseite aus. Zu diesem Zweck muss man den Glaskörper möglichst unversehrt in eine mit Wasser gefüllte Schale aus dem Auge herauspräparieren. Die Augenhüllen werden bis auf den Glaskörper durch Scherenschnitte in der Äquatorialebene durchtrennt und sodann der Glaskörper so herausgeschält, dass er mit Linse und Zonula in Zusammenhang bleibt. Diese Herausschälung gelingt leichter, wenn das Auge nicht ganz frisch, etwa 1 Tag alt ist, oder wenn es eine Zeit lang in 50 proz. Alkohol oder Formalin gelegen hat. Der Glaskörper wird dann in eine mit Wasser gefüllte Schale gelegt und zwar so, dass die Linse nach oben liegt; dieselbe wird nach Einreissen der vorderen Linsenkapsel mittelst zweier Pinzetten entfernt und der Glaskörper umgelegt, damit die Retinalfläche nach oben zu liegen kommt, dann wird so viel Wasser abgegossen, dass das

Flüssigkeitsniveau von der hinteren Glaskörperoberfläche eben überragt wird. Man träufelt nun einen Tropfen Farbflüssigkeit (Berliner Blau, Methylviolett, Anilinwasserblau, Karmin) auf den Glaskörper. Beim Schwein gelingt es auf diese Weise sehr leicht, den Kanal auszufüllen. Um beim Schaf und Rind den Kanal leichter aufzufinden, führt man eine mit der Farblösung gefüllte Pipette unter sanftem Drucke mit der Spitze auf der hinteren Glaskörperfläche einher, indem man konstant etwas Flüssigkeit ausfliessen lässt. Die Mündung des Kanals beim Schaf lässt sich besonders leicht finden, da die Netzhaut der Schafsaugen am Glaskörper festklebt und meist nur in der Gegend der Papille abreisst. Legt man den Glaskörper auf die Linsenfläche, so repräsentiert sich nur ein ganz kleines, von Netzhaut entblösstes Feld, wo der Kanal sicher münden muss. Es genügt, unter stetem Ausspritzen von Farbe, die Pipette auf der kleinen, von Netzhaut entblössten Fläche unter sanftem Drucke herumzuführen, um eine Injektion des Kanals zu erhalten (Stilling, Schaaff).

b) durch Einstichinjektion mit gelöstem Berliner Blau oder Alkannin-Terpentin unter die Pialscheide des N. opticus (Schwalbe).

c) durch Einstichinjektion durch die Mitte der Lamina cribrosa nach Abschneiden des Sehnerven bei seinem Eintritt in die Sklerotica (Merian).

2. vom Äquator aus. Entweder präpariert man den Glaskörper mit Linse, Iris und Corpus ciliare frei und durchtrennt ihn, in Flüssigkeit schwimmend, mit einem Fallmesser (Stilling) im Äquator, oder man verzichtet auf dieses Freipräparieren und halbiert das herausgenommene Auge mit einem haarscharf gegeschliffenem Mikrotommesser und träufelt dann die Farbflüssigkeit auf die vollständig glatte Schnittfläche aus (Stilling, Wolfrum).

3. von vorne.

a) durch Einstichinjektion in die vordere Kammer (v. Michel);

b) durch Injektion von Tusche in die hintere Augenkammer des lebenden Kaninchens (Leber);

c) durch Injektion von der Fossa patellaris aus nach Entfernung der Linse und hinteren Linsenkapsel. Man stützt dabei den Glaskörper auf eine Flaschenmündung (Wolfrum).

Eine persistierende Arteria hyaloidea findet sich bei allen Wiederkäuern und einer grossen Anzahl von Nagern.

4. Glaskörperzellen. Fixe Bindegewebszellen finden sich im Glaskörper von Embryonen (Potiechin). Im reifen menschlichen Glaskörper kommen nur Wanderzellen vor.

Von den Fischen haben diejenigen, die eine gefässführende Leiste am Boden des Auges besitzen, neben dieser Leiste oft Zellen, aber der ganze übrige Glaskörper ist frei davon; bei anderen, z. B. den Plötzen, sind Zellen über der ganzen Oberfläche verbreitet (Virchow). Nach Virchow ist es notwendig, beim Studium der Gefässe und Zellen an der Glaskörperoberfläche der Cyprinoiden ungefaltete Präparate und möglichst die äusserste Schicht allein zu untersuchen. Solche Präparate vom frischen Auge herzustellen, ist etwas mühsam, da beim Einschneiden des Glaskörpers eine zähe Masse hervorquillt, welche sich zu fusslangen Fäden ausziehen lässt. Virchow gibt folgende Vorschrift: Man trage von einem Auge, welches nach Ablösung der Sklera und Chorioidealdrüse 7 Stunden in 1 proz. auf etwa 30° erwärmter Sublimatlösung (oder 24 Stunden in Müller scher Flüssigkeit oder 2 pCt. Kal. bichrom.) war, den hinteren Teil ab, lege Glaskörper und Netzhaut auseinander, fasse mit einer Pincette die Glaskörperhaut, mit einer anderen den übrigen Glaskörper, löse sie voneinander und lege die Glaskörperhaut, welcher immer eine dünne Schicht anhaften bleibt, die Aussenseite nach abwärts, auf einen Objektträger, bedecke das Präparat mit einem Deckgläschen, drücke dieses leicht an und bringe den Objektträger mit Präparat und Deckgläschen in eine Schale mit Alkohol. Nach einigen Stunden schiebe man vorsichtig das Deckgläschen, dem das Präparat anhaften bleibt, von dem Objektträger herunter und färbe mit Hämatoxylin und Eosin. Dann Entwässern, Aufhellen, Einschluss in Lack.

Die **Membrana hyaloidea** lässt sich im frischen Zustande leicht mit dem Glaskörper im Zusammenhange von der Innenfläche der Retina abziehen. Es empfiehlt sich auch, die betreffenden Augen einen Tag lang in Alkohol 60 pCt. zu legen (Schwalbe) (cf. „Margo limit. retinae" S. 223). Auch an Augen, die ein oder zwei Tage nach dem Tode zur Untersuchung gelangen, bleibt die Hyaloidea im Zusammenhang mit dem Glaskörper (Aeby).

Beim Frosch lässt sich die Membrana hyaloidea durch eine 2 proz. Lösung von Chloralhydrat leicht von der Netzhaut isolieren. Sie bewirkt zugleich auch eine Ablösung der Innenhaut der Gefässe. Färbung mit Violett B. (S. Mayer).

Literatur.

Aeby, Arch. f. Ophth. Bd. 28. I. 1882. — Ginsberg, Berl. ophth. Ges. 22. VI. 1905. — Hache, Acad. des scienc. Séance du 4 Juillet 1887 u. France médic. S. 1143. — Hannover, Müllers Arch. 1845. — v. Hippel, Arch. f. Ophth. Bd. 68. 1908. — Iwanoff, Strickers Handb. d. Lehre von d. Geweben. 1871. — Leber, Vortr. a. d. 9. intern. ophth. Kongr. Utrecht 1899. — Lieberkühn, Schriften d. Ges. z. Beförd. d. ges. Naturw. z. Marburg. Bd. 10. — S. Mayer, Sitz.-

Ber. d. Wiener Akkad. 1886. — Merian, Arch. f. Anat. Phys. 1891. — Merkel Graefe-Sämisch. I. Aufl. Bd. 1. — Potiechin, Virchows Arch. Bd. 72. 1878. — Retzius, Biolog. Unters. N. F. VI. Stockholm 1894. — Schaaff, Arch. f. Ophth. Bd. 67. I. — Bd. 71. — Schwalbe, Handb. d. Anat. d. Sinnesorgane. — Stilling Arch. f. Ophth. Bd. 14. III. 1868. — Bd. 15. III. 1869. — Bd. 69. I. 1909. — Straub, Arch. f. Ophth. Bd. 34. III. 1888. — Virchow, Beitr. z. vergl. Anat. d. Auges. Habilitationsschr. Berlin 1882. — Arch. f. mikr. Anat. Bd. 24. 1885. — Merkel-Bonnet. Bd. 10. 1900. — Wolfrum, Arch. f. Ophth. Bd. 65. II. 1907. — Bd. 67. II. 1908. — Bd. 70. I. 1910.

Siebenzehntes Kapitel.

Schutz- und Hülfsapparate des Auges.

I. Conjunktiva.

a) Kreislauf. Zur mikroskopischen Demonstration des Kreislaufes an der Palpebra tertia von Kaninchen und Lämmern, sowie an der Membrana nictitans von Tauben und Hühnern und zur Anstellung von physiologischen Versuchen über das Verhalten der Zirkulation z. B. bei Einwirkung differenter Stoffe bei direkter und indirekter Anwendung auf die Zirkulation und Gefässe, fixiert man das Tier unbeweglich und stellt eine Glasplatte mittelst einer passenden Stativvorrichtung so auf, dass die zu untersuchende Membran mit Hülfe einiger durchgestochenen Fäden darauf fixiert werden kann. Es lässt sich an einem 2—6 mm breiten Saume der Palpebra tertia, welche frei von Knorpel ist, und nur aus zwei dünnen, durch spärliches Bindegewebe verbundenen Platten der Konjunktiva besteht, der Kreislauf Stunden lang beobachten (Balser).

b) Normale Histologie.

Zur Isolierung des **Epithels** dient die 10 proz. Kochsalzlösung, $^1/_3$ Alkohol, konzentr. Salpetersäure, ebenso das Czernysche Gemisch, aus gleichen Teilen Müllerscher Flüssigkeit und Speichel bestehend (Langerhans). Diese Mazeration ist für viele Flächenpräparate zu empfehlen.

Knäuel- oder Schweissdrüsen findet man am Cornealrande einiger Wiederkäuer (Rind, Ziege).

Nerven und **Krausesche Endkolben.** Zur Untersuchung dienen die Goldmethoden, die Osmiumsäure, das Methylenblau. Man lässt dabei am zweckmässigsten die Konjunktiva in ihrem Zusammenhange mit der Sklera und Cornea. Zu diesem Zwecke

durchschneide man nach Dogiel den Augapfel samt seiner Bindehaut längs einer Linie, welche 5—8 mm weit hinter dem Cornealrande und dem Äquator parallel verläuft. Der so erhaltene vordere Abschnitt des Bulbus wird von dem Ciliarkörper, der Linse etc. befreit und darauf in mehrere Teile zerschnitten, deren jeder für sich gefärbt wird.

Die Nerven treten auch schon hervor, wenn man nach der Krause schen Angabe ganz frische Konjunktiva flach ausbreitet und in Humor aqueus, verdünnter Natronlösung, Jodserum etc. ohne jeglichen Druck betrachtet. Man muss dabei das subkonjunktivale Gewebe so gut als möglich entfernen.

Über Goldmethoden s. unter Cornea S. 182; Methylenblau S. 121.

Die Osmiumsäure kann man so anwenden, dass man die Konjunktiva entweder in eine Osmiumsäurelösung ($^1/_3$—1 proz.) eintaucht oder sie den Dämpfen einer solchen 12—24 Stunden lang aussetzt. Das Epithel lässt sich alsdann leicht entfernen. Poncet injizierte die Osmiumsäurelösung (1: 1000) unter die Conjunctiva bulbi (Longworth, Poncet).

c) Pathologische Histologie.

Stiedasche Becherzellen s. S. 143. Darstellung der Öffnungen durch Versilberung s. S. 131.

Verhornung der Epithelien. Gram sche Methode.

Hyaline Kugeln: Aussehen homogen. Durch Äther, Alkohol, Chloroform, Säuren und Alkalien werden sie nicht verändert. Hämatoxylin und Eosin färben die Kugeln nicht, basische Anilinfarben dagegen sehr intensiv; bei der Färbung nach Ziehl-Neelsen behalten sie eine rosa- bis dunkelrote Farbe, bei der Färbung nach Gram eine dunkelblaue oder violette Farbe, man differenziert mit Aceton und Alkohol unter Zusatz von etwas Pikrinsäure. Bei längerer Einwirkung dieses Differenzierungsmittels geben die Kugeln jedoch ihre violette Farbe ab und erhalten eine schön strohgelbe Nuance. Fixierung in Sublimat oder Alkohol. (Gonella, Kastalsky.)

Die **Petersschen Gebilde,** ovale, mit einem Fasergewirr zusammenhängende Gebilde, welche sich frisch mit Methylenblau, in Schnitten im Gegensatz zu den sogen. hyalinen Kugeln mit allen gebräuchlichen Kernfarben, am besten nach van Gieson tingiren lassen, dürften wohl als fibrinbildende Lymphozyten aufzufassen sein. Man erhält solche Bilder, indem man Konjunktival-

eiter auf einen Objektträger verstreicht, ihn durch dreimaliges Durchziehen durch die Flamme fixiert und nun mit Methylenblau färbt (Peters, Seligmann).

Russelsche Fuchsinkörper, s. S. 129.

Auch die Altmannsche Granulamethode ist für die Darstellung dieser Körperchen zu verwenden.

Trachom. Mehr oder weniger grosse Stücke der Conj. palpebr. oder auch der Conj. bulbi, dicht an der Cornea oder entfernter liegend, werden mit der Schere weggekappt und frisch oder gehärtet untersucht. Follikel werden durch Ausquetschen entfernt und frisch auf den Objektträger gebracht oder gehärtet. Sehr wichtig sind auch Epithelausstrichpräparate. Näheres s. Kap. XX.

Frühjahrskatarrh. Den ausserordentlichen Reichtum des eigentümlich zähen und weisslichen Sekretes an eosinophilen Zellen erkennt man nach Färbung mit Eosinmethylenblau oder mit Leishmans Farbstoff (fertig bei Grübler). Er wird auf das nicht fixierte Präparat aufgeträufelt, nach ½ Minute dazu die gleiche Menge Wasser; Abspülen nach 2 Minuten, trocknen etc. (Axenfeld und Rupprecht).

Conj. petrificans s. Kalk.

Xerosis conjunctivae. Von dem weisslichen Belag der Skleralbindehaut und von dem die Hornhaut bedeckenden Sekret lässt sich leicht etwas abschaben und frisch untersuchen. Die weissliche Substanz wird von Wasser schlecht benetzt, aber leicht von 25 proz. Alkohol; sie lässt sich darin gut zerzupfen und löst sich in lauter dünne Epithelplättchen auf, die mit feinen Pilzelementen bedeckt sind. Die Färbung der Spaltpilze gelingt an Trockenpräparaten mit verschiedenen Anilinfarben, Gentianaviolett Fuchsin und Bismarckbraun gleich gut.

An Präparaten, die in Müller scher Flüssigkeit fixiert sind, lässt sich das Epithel der Bindehaut im Umfang der Hornhaut überall mit der Präpariernadel in steifen, weissen Lamellen abheben, welche sich mit Wasser befeuchten lassen und in eine Anzahl sehr zarter, leicht perlmutterglänzender Häutchen zu spalten sind. Auf der Oberfläche des Epithels findet man die Spaltpilze, welche auch ohne Tinktion mit Zusatz von etwas Wasser oder Glyzerin zu erkennen sind. Zur Tinktion eignet sich besonders Gentianaviolett. Hämatoxylin ist nicht zu gebrauchen, weil bei hinreichender Intensität die Epithelzellen zu dunkel werden, als dass man auf denselben die Pilze gut unterscheiden könnte (Leber).

Pinguecula, Pterygium. Nachweis von Collacin, Collastin, Elacin.

II. Augenlider.

Bei der Fixierung von lebenswarmen Objekten (Hingerichtete) beachte man, dass der noch lebensfrische M. orbicularis durch das Reagens heftig gereizt wird und dadurch nicht nur selbst in eine unnatürliche Lage gerät, sondern auch auf seine Umgebung entstellend einwirkt. Man wartet deshalb unter Umständen besser einige Stunden oder trägt den Muskel möglichst ab.

Kommt es einem bei der Anfertigung von **Schnittpräparaten** darauf an, die normale schalenförmige Krümmung der Lider zu erhalten, so darf man dieselben nicht, wie es gewöhnlich zu geschehen pflegt, mittelst Igelstacheln auf eine flache Korkscheibe feststecken und sie so in die Fixierungsflüssigkeit bringen, weil auf diese Weise Verziehungen und Deformierungen eintreten (V i r c h o w), sondern man befestigt sie auf die konvexe Halbkugel eines Champagnerkorkes oder man fixiert das Lid in situ durch Injektion der Fixierungsflüssigkeit in die Blutgefässe. Als Fixierungsmittel empfiehlt sich Alkohol und Formol-Alkohol, ferner M ü l l e r sche Flüssigkeit, Formol-Müller, Z e n k e r sche Flüssigkeit, Einbettung in Celloidinum ricinatum[1]) (Celloidin mit 2 proz. Ol Ricini), oder Celloidin-Paraffin. Färbung mit Hämatoxylin-Eosin, Karmin-Pikrinsäure, v a n G i e s o n scher Mischung.

Von der **Lidhaut** kann man auch Gefrierschnitte anfertigen oder dieselbe t r o c k e n s c h n e i d e n (J o s e p h). Man lässt zu diesem Zweck ein Hautstückchen einige Stunden an der Luft trocknen, klemmt es dann einfach oder umgebogen in einen mit Ausschnitt zur Aufnahme des Objekts versehenen Kork (oder Amyloidleber) und schneidet mit einem Rasiermesser aus freier Hand oder mit trockenem Mikrotommesser auf dem Mikrotom. Von Zeit zu Zeit muss man, besonders bei nicht ganz kleinen Objekten, die Oberfläche wieder von neuem ein wenig eintrocknen lassen, bevor man weiter schneidet. Derartig erhaltene Schnitte können ungefärbt auf den Objektträger gebracht, und in Wasser oder Glyzerin untersucht werden, oder auch, eventuell nach kurzer Härtung in absoluten Alkohol, mit den gewöhnlichen Methoden gefärbt werden.

Epithelfasern. Für das Studium des Epithelprotoplasmas gilt das für das Protoplasma im allgemeinen Gesagte. Zur Darstellung der Proto-

[1]) Chem. Fabrik auf Aktien vorm. E. Schering, Berlin.

plasmafasern in den Epithelzellen sowie der ausserhalb der Zellen verlaufenden sogenannten Herxheimerschen spiraligen Fasern dienen folgende Methoden:

a) Methode von Kromayer: Paraffineinbettung der in absol. Alkohol gehärteten Stücke. Messer haarscharf, schräg zum Messerschlitten gestellt. Einstellung des Präparats so, dass die Epidermis zuerst getroffen wird. Schnitte von 2—3 μ in öfters zu wechselndes Xylol gebracht, dann in absol. Alkohol, der ebenfalls einmal zu wechseln ist; dann Hinzufügung von Wasser zum Alkohol, bis er nur wenige Prozent der Mischung beträgt; dann Färbung auf dem Objektträger 5 Minuten mit einer Mischung von konzentr. Anilinwasser und konzentr. wässeriger Lösung von Methylviolett 6 B $\overline{aa}$. Auswaschen in Wasser. 1—3 Sekunden in Lugolscher Lösung. Auswaschen in Wasser, Abtrocknen mit Fliesspapier. Differenzieren (am besten unter Kontrolle des Mikroskops) in Anilinxylol 1: 2. Xylol. Balsam. Vorfärbung in Alaunkarmin. Kerne rot, Epithelfasern blau.

b) Methode von Unna: Von einer vorrätig zu haltenden Wasserblau-Orceinmischung (Grübler) (Wasserblau 1.0, Orcein 1.0, Eisessig 5, Glyzerin 20.0, Spiritus 50.0, Wasser ad 100,0) wird in einem Reagenzglas 1 g zuerst mit 0,3 g. einer 1 proz. Lösung von spritlöslichem Eosin in 80 proz. Alkohol und sodann mit 0,3 g einer 1 proz. Hydrochinonlösung gut gemischt. Färbung 10 Minuten in der Kälte. Abspülen in Wasser. Färbung 10 Minuten in 1 proz. Lösung von Safranin (O. Grübler). Wieder abspülen in dest. Wasser. Kalium bichromicum (½ proz. wässerige Lösung) 10—30 Minuten. Abspülen in Wasser. Alkohol 70 pCt. Alkohol absol., Xylol, Balsam. Epithelfasern safraninrot. Protoplasma des Epithels dunkelblau bis dunkelviolett. Kerne und Kernkörperchen leuchtend rot. Im Bindegewebe rote Kerne, violettes Granoplasma. Leukozytenkerne rot neben blauen neutrophilen Granulationen. Collagen blau. Elastin rot.

c) Methode von Herxheimer. Schnitte von in Formol fixierter Haut werden auf dem Objektträger mit konzentr. wässerigen Cresylechtviolett solange über der Spiritusflamme erhitzt, bis Dämpfe aufsteigen, sodann lässt man auf den Schnitt etwa 15 Sekunden lang Äther acetico-aceticus (Merk, Darmstadt) einwirken, entwässert in Alkohol und hellt kurze Zeit in Nelkenöl auf, um sie dann in Xylol zu behandeln. Balsam. Die Protoplasmafasern sind blau, das netzige, d. h. wabige Protoplasma rötlich gefärbt.

Epithelhyalin, s. Hyaline, Entartung. Keratohyalin, Keratin, Eleïdin, s. die betreffenden Artikel. Elastin, s. Elastische Fasern.

Fettgewebe in den Lidern findet sich namentlich bei Japanern (Adachi). Über den Nachweis vergl. Fett.

Cilien werden unzerzupft in Kochsalzlösung, Glyzerin oder Xylol untersucht. Zur Isolierung der Elemente Einlegen in 40 proz. Kalilauge oder in konzentr. Schwefelsäure, Deckglas, mit der Nadel drücken; oder Mazeration teils frischer, teils in Müllers Lösung fixierter Haare bei 40° C. in Pepsin-Salzsäure-Glyzerin (½ proz. Lösung von Pepsin in 1 proz. Salzsäure-Glyzerin); zur

Darstellung der Elemente des Haarbalgs Ausschneiden eines 2 cm grossen Stückes des Wimperbodens und Einlegen für 2 Tage in 5 proz. Essigsäure, Ausziehen der einzelnen Haare mit Scheiden, Zerzupfen (Herzog).

Für Schnittpräparate:

a) Färbung nach Norris-Shakespeare (richtiger nach Merkel).

1. Färbung 20 Minuten in zu gleichen Teilen zusamengesetzter filtrierter Mischung von

Karmin	2,0		Indigokarmin	8,0
Borax	8,0	und	Borax	8,0
Wasser	130,0		Wasser	130,0

2. 20 Minuten in konzentr. wässeriger Oxalsäurelösung;

3. 20 Minuten in Alkohol absol;

4. Xylol, Balsam.

Die Schnitte dürfen nicht mit Eiweiss aufgeklebt sein, weil dasselbe durch Oxalsäure abgelöst wird.

Äussere Haarwurzelscheide rot, Henlesche Schicht hellgrün, Huxleysche Schicht dunkelviolett, Cuticula grün, Markzellen rot.

b) Färbung nach Günther.

1. Fixierung in Müllerscher Flüssigkeit, Härtung in Alkohol, Paraffineinbettung, Schneiden.

2. Färbung 12 Stunden in verdünntem Hämatoxylin Böhmer.

3. Differenzierung in salzsaurem Alkohol, Auswaschen in ammoniakalischen, dann reinem Wasser.

4. Färbung 6 Stunden in einem Uhrschälchen Wasser mit Zusatz von 3 Tropfen konzentr. wässeriger Pikrinsäurelösung und 8 Tropfen Eosinlösung, Auswaschen in 70 proz. Alkohol.

5. Alkohol absol., Xylol, Balsam.

Keratohyalin und unterster Teil der Besenhaare rot, Haare selbst gelb, Cuticula gelb, rote Blutkörperchen orange, Kerne und Keratin blau.

Anfertigung von **Längsschnitten** (Herzog). Dabei muss das Messer von der Wurzel nach der Haarspitze zu durchgeführt werden. Schnittdicke 5—10 μ. Fixierung der einzelnen Haare in Alkohol absol. (1—2 Stunden). Aufhellung in Anilinöl. Einbringung in einmal gewechseltes Xylol, Übertragung in Weichparaffin (in kleinen Tuschenäpfchen, 1 Stunde; darauf werden Glasschälchen

mit absolut ebenen Boden (kleine Petrischalen) mit Glyzerin ausgestrichen, mit flüssigem Hartparaffin gefüllt und hierin die Cilien aus dem Weichparaffin eingebracht. Brutschrank 56°, 1 Stunde. Eintauchen des Schälchens in kaltes Wasser, Herausheben der Paraffinscheibe mit den oberflächlich eingeschmolzenen, horizontal gelagerten Haaren, was dank dem Glyzerinausstrich stets leicht gelingt, aus der Schale, Herausschneiden eines rechteckigen, je ein Haar enthaltenden Paraffinstückes, Aufkleben desselben auf einen Paraffinblock. Färbung der Schnitte mit Eisenhämatoxylin-Pikrinfuchsin oder einer von Herzog modifizierten Doppelfärbung nach Pick-Jacobsohn (Methylenblau, Karbolfuchsin $\overline{aa}$ 20 Tropfen, Aq. dest. 20,0), wobei gleichzeitig bakterielle Keime mitgefärbt werden, während die Hornsubstanz rot gefärbt wird. Mit dieser Doppelfärbung sind an den Zellen des Haarmarkes alle Phasen der Entstehung des Epithelhyalins darzustellen.

Meibomsche Drüsen. Aufhellung der Lider mit Anilinöl macht die Drüsenkörper in sehr instruktiver Weise sichtbar (Herzog).

Injektion der Drüsen sowohl von ihrer Mündung aus, als auch durch Einstich. Die erhaltenen Injektionspräparate teilen sich in zwei Kategorien; solche, wo die Masse das Lumen der Drüse ausfüllt, und solche, wo sie die Räume um die Acini herum erfüllt.

Die Injektionen in das Lumen der Drüse geschehen am besten durch Einstich in das obere Ende derselben. Die in das Lumen vordringende Injektionsflüssigkeit (Berliner Blau cf. nächste Kapitel) treibt den talgartigen Inhalt der Drüse vor sich her, welcher in Gestalt eines feinen Würmchens unter drehenden Bewegungen aus der Mündung der Drüse herausgepresst wird, bis endlich die Injektionsmasse selbst aus der Mündung abfliesst.

Durch Einstichsinjektionen und ebenso bei Injektion von der Mündung aus füllt sich nicht das Lumen der Drüse, sondern die Masse dringt zwischen die Drüsenacini und deren Membrana propria ein. Eine derartig injizierte Drüse gewährt an vollständig durchsichtig gemachten Lidern einen höchst lehrreichen Anblick (Fuchs, Czerny).

Zur Darstellung der **Nerven** dienen die Methode von Golgi und die Methylenblaumethode. Im ersteren Falle zerschneide man die Lider in senkrechter Richtung in kleinste Stückchen und behandele sie dann nach der Golgi-Cajalschen Methode (doppelte und dreifache Imprägnation) (Bach). Im zweiten Fall

entferne man von dem ausgeschnitteten Lide die ganze Haut samt der darunter liegenden Bindegewebeschicht, und färbe dann das Lid auf dem Objektträger mit der Konjunktivalseite nach oben mit Methylenblau. 1—1½ Stunden genügen zur Färbung. Fixierung in pikrinsaurem Ammoniak 18—24 Stunden. Einschluss in Glyzerin, pikrinsaure Ammoniaklösung $\overline{aa}$, in der die Lider nach 3—4 Tagen ganz durchsichtig werden. Da sich bei dem Fixieren das Epithel leicht ablöst und man deshalb nicht imstande ist, alle intraepithelialen Nervenfäden zu beobachten, so fixiere man besser mit einem Gemisch aus pikrinsaurem Ammoniak und Osmiumsäure (Dogiel).

Lidödem. Man bringt ein Stück Lidhaut in kochendes Wasser. Nach 1—2 Minuten ist das Eiweiss geronnen (Kochmethode [Posner]), dann Gefrierschnitte.

Xanthom. Das gelbe Pigment in Xanthomen ist fetthaltig (Lipochrom) und wird durch Osmiumsäure, bezw. Flemmingsche Lösung, durch Sudan III (vergl. S. 139) (und Alkannatinktur) zur Darstellung gebracht. Doppelbrechung der das Gewebe erfüllenden Nadeln und Krystalle sieht man in prachtvollster Weise unter dem Polarisationsmikroskop nach vorheriger Formalinhärtung und Schneiden mit dem Gefriermikrotom (Pinkus und Pick).

Lipom. Vergl. Fett.

Blepharochalasis. Schwund des Kollagens und Elastius.

III. Tränenapparat.

Die **Tränendrüse** fixiere man in Formalin, Zenkerscher Flüssigkeit, Flemmingscher Lösung, Alkohol. Einbettung in Paraffin. Färbung mit Hämatoxylin, Karmin, van Gieson, Safranin. Darstellung der Zellgranula nach der Altmannschen Methode. Zur Untersuchung besonders geeignet ist die Tränendrüse der Katze.

Flächenpräparate der accessorischen Tränendrüsen erhält man, indem man die ganze Konjunktiva vom Lidrande aus bis auf den Bulbus abpräpariert und nach Behandlung mit Acid. tartaricum oder Acid. aceticum zwischen zwei Glasplatten bringt (Terson).

Zum Nachweis von **Nerven** dienen die Goldmethoden, die Golgische Methode und die Färbung mit Methylenblau auf dem Objektträger.

Geeignet hierzu sind die Tränendrüsen des Kaninchens oder Meerschweinchens. Man verwechsele sie nicht mit der an der nasalen Seite des Bulbus unter der Konjunktiva der Nickhautbasis gelegenen Harderschen Drüse.

Die gesamten **Ableitungswege** der Tränen kann man injizieren, und zwar von der Ausmündung des Tränenkanals aus, nach Entfernung der unteren Muschel.

IV. Augenmuskeln.

Zur Fixierung dienen Formalin, Formalin-Müller, Pikrinsäure-Sublimat, Flemmingsche Lösung. Zur Einbettung eignet sich am besten Celloidin. Paraffin durchtränkt die Muskeln nur schwer, jedenfalls müssen die Muskeln sehr gut entwässert sein und mehrere Tage in Chloroform liegen. Zur Färbung dient namentlich die van Giesonsche Methode (die Muskeln heben sich hellgelb vom roten Bindegewebe ab), ferner Hämatoxylin-Eosin, Karmin-Pikrinsäure oder Pikro-Karmin, Safranin. Methode von Norris-Shakespeare (Muskelsubstanz blaugrün, Kerne rot).

Die **Nerven und Nervenendigungen** stellt man durch die Goldmethoden und die Methylenblaufärbung dar.

Am besten eignen sich für die Goldmethode Augenmuskeln, die bei Sektionen 4—10 Stunden nach dem Tode der Leiche entnommen werden. Weder ganz frische noch völlig abgestorbene liefern so gute Resultate (Gerlach). Zur Darstellung und Beurteilung der Nervenapparate ist eine Isolierung der Augenmuskelfasern unbedingt notwenig. Dieses geschieht nach der Sihlerschen Methode: Man härtet die Muskeln einen bis mehrere Tage in einer 1 proz. Formollösung und mazeriert sie dann in einer 1 proz. Chloralhydratlösung und mehr oder weniger konzentr. Essigsäure. Hierbei lassen sich die Muskeln (unter der Lupe) leicht in ihre Primitivbündel zerlegen, aber sie erhalten nur geringe Durchsichtigkeit, und ausserdem kommen die Endplatten der Nerven kaum zum Vorschein. Man erreicht dies am besten, wenn man die Muskeln nach der Rougetschen Methode mit 25 proz. Kochsalzlösung behandelt. Hierbei ist eine Isolierung der Fasern nicht so leicht möglich, wie nach der Sihlerschen, die Durchsichtigkeit der Muskelfasern wird aber in äusserst vollkommener Weise erreicht. Nach der Kochsalzlösung Färben mit 25—50proz. Ehrlichschem Hämatoxylin (mehrere Tage), dann in Glyzerin längere Zeit

und vorsichtiges Zerlegen der Muskeln unter der Lupe (vergl. Zupfpräparat, Kap. VII) (Levinsohn).

Methode nach Loewit-Bremer:

Man legt die Muskelstücke in eine 25 proz. Ameisensäure, bis sie durchsichtig sind, dann 15—20 Minuten in eine 1 proz. Goldchloridlösung, darauf in eine 25 proz. Ameisensäureverdünnung 24 Stunden im Dunkeln. Dann kommen sie in eine Mischung von dest. Wasser und Ameisensäure $\overline{aa}$, abermals 24 Stunden im Dunkeln. Dann 2—3 Wochen in 20 proz. ameisensaures Glyzerin, bis die Muskeln etwas entfärbt und stark mazeriert sind. Untersuchen in Glyzerin. Aufbewahren der brauchbaren Muskelsubstanz in 1 proz. ameisensaurem Glyzerin (Bremer).

Methylenblaumethode: Zur Darstellung der sensiblen Nervenendigungen in den Augenmuskeln und deren Sehnen wird der Augapfel mit sämtlichen Muskeln (bis dicht an ihre Anheftung an die Sehnen des N. opticus) und den umgebenden Fettgewebe aus der Orbita herauspräpariert. Nach sorgfältiger Entfernung des Fettgewebes von den Muskeln wird das Auge je nach der Grösse in eine mehr oder weniger tiefe Schale derart gelagert, dass die geraden Augenmuskeln mit den an die Sklera sich anheftenden Sehnen mehr oder weniger gespannt sind. Die äussere Oberfläche eines der geraden Muskeln und seiner Sehne wird dann mit $^1/_8$—$^1/_{14}$ proz. Methylenblaulösung befeuchtet. Man deckt dann die Schale zu und stellt sie für $1\frac{1}{2}$ bis höchstens 2 Stunden bei 36—37° C. in den Thermostaten. Während dieser Zeit müssen die Muskeln mehrere Male mit Methylenblaulösung befeuchtet werden. Nach Ablauf der Färbezeit werden die Muskeln mit den Sehnen abgeschnitten und für 24 Stunden in eine 5 oder 7 proz. Lösung von molybdänsaurem Ammonium eingelegt, dann 3—4 Stunden in dest. Wasser ausgewaschen. Darauf werden von der inneren Fläche der Muskeln vorsichtig kleine Stücke abgeschnitten, sorgfältig ausgebreitet und mit Nadeln auf Kartonstücke gespannt, um so in absolutem Alkohol entwässert und nach Xylolbehandlung in Xylol-Damarlack oder Xylol-Kanadabalsam eingeschlossen zu werden (Dogiel).

Nerventerminalorgane in den Sehnen der Augenmuskeln.

1. Die in 2 proz. Lösung von doppeltchromsaurem Kali gehärteten Objekte (3 Tage lang) kommen auf 30 Minuten in 1 proz. arsenige Säure oder Essigsäure, bis sie durchsichtig werden, und dann ebenso lange in 1 proz. Goldchloridlösung. Die Stückchen

werden nach vorläufigem Abwaschen mit Wasser in eine 1 proz. Lösung von Arsensäure übertragen, an welcher in der Sonne innerhalb 24—30 Stunden die Reduktion eintritt. Diese letztere Lösung wird gewechselt, sobald sie braun wird. Einschluss der Objekte in Glyzerin (Marchis Methode).

2. Ganz frisches Gewebe kommt auf ½ Stunde in 1 proz. Goldchloridlösung und wird dann in ½ proz., auf 36° C. erwärmte Oxalsäurelösung übertragen, wo es bis zur Abkühlung dieser letzteren verbleibt und sodann in Glyzerin aufgehoben wird. (Manfredis Methode).

Sehnenspindeln oder Golgische Körperchen.

Zur Untersuchung besonders geeignet sind die Augenmuskeln der Rinder. Die mit der Sehne ausgeschnittenen vorderen Muskelhälften werden sorgfältig ausgebreitet, mit Igelstacheln auf einen Karton in diesem Zustande aufgeheftet, dann in ein Gefäss mit einer verhältnismässig grossen Menge (etwa 200 ccm) von 1 oder 2 proz. Silbernitratlösung übertragen und darin 4 — 5 Tage im Thermostaten bei 35—36° C. belassen. Dann rasches Auswaschen in dest. Wasser und Einlegen in das reduzierende Gemisch von Pyrogallussäure und Formol (24 Stunden). Abspülen mit dest. Wasser. Härtung in Alkohol absol. 1—2 Tage. Celloidineinbettung. Schnittrichtung quer und parallel zur Muskeloberfläche.

Um ein volles und deutliches Bild der Sehnenspindeln zu erhalten, ist es aber unbedingt nötig, auch Methylenblaupräparate herzustellen (Dogiel).

V. Ganglion ciliare.

Dasselbe wird untersucht durch Behandlung mit Überosmiumsäure und Karminfärbung, durch Mazeration mit schwachen Lösungen von Kali bichrom. und nachfolgendem Isolieren der Nervenzellen durch Zerzupfen, durch die Golgische und Methylenblaumethode. Ferner kommt in Anwendung die Thionin-Erythrosinfärbung, die Weigertsche Markscheidenfärbung und die Degenerationsmethode nach Marchi.

Am besten eignen sich zur Untersuchung neugeborene Katzen, die ein sehr grosses Ganglion ciliare haben.

Man lässt das Ganglion in situ neben dem Opticus und färbt es mit den umgebenden Muskeln, um die Schnitte dann vertikal gegen die Längsachse anzulegen. (Apolant, d'Erchia, Holtzmann, Michel, Retzius, Bach).

Literatur.

Adachi, Mitt. d. med. Fakult. Tokio. Bd. 7. 1907. — Apolant, Arch. f. Anat. Phys. (Phys. Abt). 1896. — Verhandl. d. anat. Ges. 10. Vers. Berlin 1896. — Axenfeld u. Rupprecht, Klin. Monatsbl. f. Augenheilkunde. 1907. II. — Bach, Arch. f. Ophth. Bd. 41. III. — Bd. 47. III. — Balser, Zeitschr. f. Chir. Bd. 7. —Bremer, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 21. 1882. — Czerny, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 1874. — Dogiel, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 37. 1891. — Bd. 42. 1893. — Bd. 44. 1895. — Bd. 67. 1906. — Bd. 68. 1906. — D'Erchia, Monitore zool. ital. V. 1894 u. 1895. — Frickenhaus, Monatsh. f. prakt. Derm. Bd. 23. 1896. — Fuchs, Arch. f. Ophth. Bd. 24. III. — Gerlach, Das Verhältnis d. Nerven zu d. willkürl. Muskeln d. Wirbelt. 1874. — Günther, Dissertat. Berlin 1895. — Helfreich, Über die Nerven d. Conj. u. Sklera. Würzburg 1870. — Herzog, Zeitschr. f. Augenheilk. Bd. 12. 1904. — Arch. f. Ophth. Bd. 69. 1908. — Encycl. d. mikr. Techn. II. Aufl. Art.: Auge. 1910. — Holzmann, Morphol. Arb., herausgeg. v. G. Schwalbe. VI. 1. 1896. — Joseph, Derm.-histol. Techn. III. Aufl. Berlin 1905. — Kastalsky, Comptes-rendues du XII. congrès internat. de Médecine Moscou. 1897. Bd. 6. Moskau 1898. — Krause, Zeitschr. f. rat. Med. 3. Reihe. V. 1859. — Die terminalen Körperchen der einfach sensiblen Nerven. Hannover 1860. — Krzysztalowicz, Monatsh. f. prakt. Derm. Bd. 30. 1900. — Leber, Arch. f. Ophth. Bd. 29. III. — Ledermann, Encycl. d. mikr. Techn. II. Aufl. Art.: Haut. 1910. — Levinsohn, Arch. f. Ophth. Bd. 53. — Longworth, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 11. — Marchi, Arch. f. Ophth. Bd. 28. I. 1882. — Michel, Transakt. of the VIII. Internat. ophth. Kongr. Edinburgh 1894. — Norris u. Shakespeare, Amer. Journ. of the med. sc. 1877. — Peters, Comptes rend. du XII. Congrès internat. de méd. Moscou. 1897. Bd. 6. — Pinkus, u. Pick, Deutsche med. Wochenschr. 1908. No. 33. — Poncet, Arch. de Physiol. norm. et path. II. Série. Bd. II. No. 5. — Posner, Arch. f. path. Anat. Bd. 79. 1880. — Retzius, Biol. Untersuch. Neue Folge. VI. Jena 1894. — Rouget, Arch. de Phys. 1897. No. 3. — Seligmann, Zeitschr. f. Augenheilk. Bd. 20. 1908. — Sihler, Arch. f. Anat. Phys. 1885. — Terson, Arch. d'Ophth. Bd. 12. 1892. — Virchow, Graefe-Sämisch. II. Aufl. Bd. I. Kap. 2.

Achtzehntes Kapitel.

A. Blutbahnen.

Um die Gefässverteilung im Auge genauer zu studieren, ist es notwendig, die Gefässe dadurch deutlich sichtbar zu machen, dass man sie mit einer farbigen, transparenten Masse injiziert. Aber nicht nur demjenigen, der speziell über die Gefässe des Bulbus arbeiten will, sondern auch dem praktischen Ophthalmologen, der über die Vaskularisierung des Auges und deren Be-

deutung im gesunden Zustand und bei krankhaften Prozessen eine richtige Vorstellung zu bekommen wünscht, sind derartige Injektionen auf das angelegentlichste zu empfehlen. Wer zum ersten Male eine injizierte Retina mit dem Mikroskop betrachtet, wird über den Blutreichtum dieses Organs erstaunt sein, da wir mit dem Augenspiegel nur eine verhältnismässig geringe Vaskularisation zu sehen gewohnt sind.

Die Injektionstechnik wird gewöhnlich als eine grosse Kunst hingestellt; trotzdem aber kann sie jeder, der nicht gar zu ungeschickt ist, erlernen.

Um **menschliche Augen** zu injizieren, ist es notwendig, den ganzen abgeschnittenen Kopf zur Verfügung zu haben. Noch besser freilich ist es, wenn der Kopf nicht vom Körper getrennt ist, weil dann keine Luft in die Carotiden eindringen kann. Dieses Eindringen von Luft hat man möglichst zu vermeiden, da sonst die der Injektionsmasse vorangehende Luftmenge grössere Strecken des Kapillargefässsystems für sich in Anspruch nimmt. Je grösser das Gefäss ist, das man zum Einbinden der Injektionskanüle anschneiden muss, um so mehr klafft es, und um so mehr Luft kann in dasselbe eindringen. Man injiziert daher das Auge des Menschen am besten von der Art. ophthalmica aus, zumal da das Lumen dieser Arterie noch weit genug ist, um bequem eine Kanüle einbinden zu können.

Anm. Wer sich von der schädlichen Wirkung des Lufteintrittes überzeugen will, braucht nur den abgeschnittenen Kopf einer neugeborenen Katze durch die Carotiden zu injizieren: er wird dann die Art. centralis corporis vitrei sowie die Ausbreitung derselben an der hinteren Linsenfläche nicht mit der Injektionsmasse, sondern mit Luft gefüllt sehen.

Steht einem nicht der ganze Kopf zur Verfügung, sondern nur die Augen, die mit dem ganzen Orbitalinhalt herausgeschnitten sind, so versuche man, dieselben von dem kleinen Stück der Art. ophthalmica aus zu injizieren, welches man an dem herausgenommenen Orbitalinhalt in allen denjenigen Fällen findet, in welchen man mit dem exstirpierenden Messer bis in das Foramen opticum eingedrungen ist. Vor der Injektion ist es aber nötig, sämtliche durchschnittenen Gefässe sorgfältig zu unterbinden. Es ist dies zwar etwas mühsam; aber dass die Injektionen auch auf diese Weise gut auszuführen sind, hat ja L e b e r bewiesen, dessen grundlegende Arbeit über die Blutgefässe des menschlichen Auges auf Injektionen von solchen Bulbi beruht.

Die Injektion geschieht durch die Arteria oder die Vena

ophthalmica. Durch beide Gefässe lässt sich das Auge vollständig injizieren, nur sind im ersteren Falle die Arterien, im letzteren die Venen stärker gefüllt. Um Arterien und Venen besser unterscheiden zu können, kann man doppelte Injektionen anwenden, indem man durch die Arterie hinter einander zwei verschieden gefärbte Massen (rot und blau) einspritzt, wobei die zuletzt injizierte Masse nur in die gröberen Zuflüsse eindringen darf. Man kann auch so verfahren, dass man zuerst die Arterien füllt und dann von der Vene aus durch eine andere Masse die erstere teilweise zu verdrängen sucht.

Leber macht darauf aufmerksam, dass die Füllung der Venen beim Erwachsenen grosse Schwierigkeiten darbietet, da sie sich nur sehr selten vollständig füllen. Leichter gelingt dies bei Kindern, bei welchen alle Gefässe der Uvea weiter und daher leichter zu injizieren sind.

Anm. 1. Nach Elschnig kann man am Kadaver mit niedrigem Injektionsdruck nicht nur bei unversehrtem, sondern auch bei eröffnetem Schädel, wenn die Art. ophthalmica von der Carotis interna vollständig abgetrennt, die letztere also ausgeschaltet ist, von einer Carotis externa oder sogar von einer Maxillaris externa aus die Gefässe der Augenhöhle der gleichen und auch der anderen Seite in relativ sehr kurzer Zeit füllen.

Anm. 2. Nach Ulrich gelingt es, wenn auch schwierig, von der Art. ciliar. longa aus Injektionen mit Berliner Blau zu machen. Mittels sehr feiner Glaskanülen kann man in das am normalen Auge ca. 0,04 mm Durchmesser betragende Lumen eindringen und mit einer Pravazschen Spritze injizieren. Leichter ist dies beim Glaukom, wo die Arteriae ciliares longae dilatiert sind.

Anm. 3. Nach Schwalbe gelingt die Füllung der episkleralen Venen von der Vorderkammer aus. Injiziert man gelöstes Berliner Blau durch Einstich in die Vorderkammer unter einem Druck von 30—50 mm Quecksilber etwa $^1/_2$ Minute lang, so erhält man eine Injektion der Venen auf der Oberfläche der Sklera um den Cornealrand herum.

Anm. 4. Die Gefässverhältnisse der Macula lutea werden vielfach nicht auf anatomischem Wege, sondern auf entoptischem untersucht, indem man z. B. gegen eine helle Fläche, ein weisses Stück Papier oder eine Lampenglocke blickt und ein feines Diaphragma in leicht kreisenden oder zitternden Bewegungen vor dem Auge bewegt.

Die Injektion der Bulbi von grösseren **Säugetieren** (Pferd, Rind, Maultier, Ziege) nehme man ebenfalls von der Arteria oder Vena ophthalmica aus vor. Die Injektion von solchen grossen Augen gelingt auch nach der Enukleation von der Arterie aus leichter als beim kleineren menschlichen Auge. Solche Füllungen nehme man nach der Unterbindung der zahlreichen durchschnittenen Gefässe stets mit kaltflüssigen Gemischen, dem Berliner

Blau oder Karmin, vor, wenn es sich um histologische Untersuchungen handelt. Handelt es sich wesentlich um Injektionspräparate, so injiziere man mit Karminleim. Am häufigsten misslingen (nach L a n g e n b a c h e r) die Injektionen an Pferdeaugen, was wohl von den verhältnismässig feinen Gefässen des Auges dieser Tiere herrührt. Sehr oft dagegen und vollständig gelingen die Injektionen bei Wiederkäuern.

Kleinere Säugetiere (Kalb, Schaf, Schwein, Hund) injiziert man besser durch eine der Karotiden und kleine (Katze, Kaninchen, Meerschweinchen, Ratte) vom Herzen aus durch die Aorta.

Für die übrigen Klassen des Tierreiches hat uns H y r t l sehr genaue Vorschriften hinterlassen, die hier zum Teil wörtlich angeführt werden sollen:

Grössere **Vögel** (hierzu gehört auch die Taube) injiziere man von den Karotiden aus. Man findet diese, einfach oder doppelt, tief unter der auf der vorderen Fläche der Wirbelsäule auflagernden Halsmuskulatur, und in der Furche zwischen den unteren Bogenelementen der Halswirbel gelegen. Man injiziert die doppelten mit einem Gabeltubus. Unerlässlich ist die Verkeilung des Kanals der Querfortsätze und des Rückgratkanals, da, wenn sie unversorgt gelassen werden, der zur Füllung der Augengefässe nötige Druck durch das Ausströmen der Masse aus den Arteriae vertebrales und spinales sich zu sehr abschwächt.

Kleinere Vögel müssen von der Aorta, oder von einer oder beiden Anonymae aus injiziert werden. Sehr leicht regurgitiert eine vollständig gelungene Injektion durch die Venen.

Bei den nackten **Amphibien** wird der Bulbus arteriosus dicht über dem Herzen injiziert. Selbst dickere Massen kehren alsbald durch alle Venen zurück, da die Kapillargefässe dieser Amphibienordnung an Weite alle übrigen übertreffen.

Bei grossen beschuppten **Reptilien** ist an der Schnittfläche des Halses die einfache (Chelonier und Ophidier) oder doppelte (Saurier) Carotis leicht zu finden und isoliert zu injizieren. Mässiger, fortgesetzter Injektionsdruck macht die Masse durch die Jugulares zurückkehren.

Bei den kleineren Ophidiern und Sauriern muss die Aorta abdominalis blossgelegt und gegen den Kopf zu injiziert werden, da die beiden aus dem Herzen entspringenden Aortenbogen nur für ein sehr feines Kaliber der Injektionsröhrchen Raum haben.

Bei grossen **Knorpel-** und **Knochenfischen** suche man die Karotis auf, wo sie von der ersten Kiemenvene abgeht. Man führe

zu diesem Zwecke von den beiden Mundwinkeln aus mit der Knochenscheere zwei Parallelschnitte nach hinten, lang genug, um die Kiemenbogen, und, wenn nötig, auch den Schultergürtel durchzuschneiden. Ist der von diesen Schnitten begrenzte und aushebbare Boden der Mund- und Rachenhöhle nach hinten umgelegt, so lüfte man dicht vor dem oberen Segment des ersten Kiemenbogens die leicht abnehmbare Schleimhaut des Gaumens, nahe an der Seitenwand der Gehirnkapsel, und präpariere sie über die Basis dieser Kapsel so weit los, bis man in der Medianlinie auf die Vereinigungsstelle der rechten und linken vorderen Kiemenvene stösst. Verfolgt man die erste Kiemenvene der präparierten Seite gegen den ersten Kiemenbogen hin, so wird man nicht zu weit zu gehen haben, um auf den Ursprung der Karotis zu stossen, welches Gefäss isoliert gegen das Auge zu injiziert wird. Die Injektion kehrt durch die Venen zurück.

Kleinere Fische müssen von der Arteria coeliaca aus rückläufig, d. h. gegen die Aorta injiziert werden.

Injektionsmassen.

Zur Injektion dienen sogenannte kaltflüssige und warmflüssige Gemische. Erstere können ohne weiteres benutzt werden, letztere müssen unmittelbar vor dem Gebrauch in einer Porzellanschale auf dem Wasserbad verflüssigt werden. Die warmflüssigen Gemische sind in allen denjenigen Fällen vorzuziehen, wo es einem auf schöne pralle Füllung der Gefässe ankommt, also bei makroskopischen Demonstrationspräparaten, bei Flächenpräparaten der Retina, Iris, u. s. w. Die kaltflüssigen Gemische sind bequemer anzuwenden, geben aber bei weitem nicht so schöne Resultate wie die ersteren, da die Injektionsmasse die Gefässe nicht völlig anfüllt. Bei der Härtung der Bulbi in Alkohol tritt nämlich das Glyzerin, welches diese Gemische enthalten, aus den Gefässen aus, während der Farbstoff auf ihrer Wandung niedergeschlagen haftet. Die Gefässe sind daher nur wenig ausgedehnt, und ihre Wände liegen meist platt aufeinander. Solche Präparate eignen sich aber gut zur Herstellung von feinen Schnitten.

Kaltflüssige Gemische.

Rote Masse. (Bealesches Karmin.)

31 Centigramm Karmin werden mit etwas Wasser angefeuchtet, dann durch 5—6 Tropfen Liq. Ammon. caustic. gelöst,

und die Lösung mit 15 g Glyzerin unter Schütteln verdünnt. Ferner werden 15 g Glyzerin mit 8—10 Tropfen konzentrierter Essigsäure angesäuert, und der Karminlösung unter starkem Umschütteln langsam und allmählich zugesetzt. Das Karmin fällt dann höchst feinkörnig aus, und das Ganze nimmt eine arteriell rote Färbung an. Zur Verdünnung dient ein Gemisch aus:

Glyzerin	15,0 g
Alkohol	7,5 „
Aq. dest.	22,5 „

Blaue Masse.

Hierzu dient „lösliches" Berliner Blau in Wasser im Verhältnis 1: 15—20. Eine derartige Lösung kann direkt zur Injektion benutzt werden, eventuell mag man sie noch mit Alkohol und Glyzerin $\overline{aa}$ 5,0 verdünnen.

Anm. Die Bezeichnung „lösliches" Berliner Blau ist ungeeignet, da dasselbe in Wasser gar nicht löslich ist, sondern sich nur so fein verteilt, dass der Eindruck einer Lösung entsteht.

Da das käufliche Berliner Blau oft nicht allen Ansprüchen genügt, so stelle man sich dasselbe auf folgende Weise selbst her: Man löst 20 g gelbes Blutlaugensalz in 500 ccm Wasser, verdünnt 10 ccm des Liquor ferri sesquichlorati der deutschen Pharmakopoe mit ebenfalls 500 ccm Wasser, giesst unter stetem Umrühren die zweite Lösung in die erste, so dass stets ein Überschuss von Blutlaugensalz vorhanden ist, und lässt sie 12 Stunden lang stehen. Dann wird die gelbe Lösung, so gut es geht, abgegossen, die blaue Lösung wird filtriert und man wäscht nun mit destilliertem Wasser so lange aus, bis das Filtrat tiefblau ist. Das dauert 1—2 Tage. Das tiefblaue Filtrat wird aufgefangen; der Niederschlag auf dem Filter wird durch wiederholtes Aufgiessen von Wasser völlig aufgelöst. So erhält man ein Liter Flüssigkeit. Um bei Injektion desselben in alkalisch reagierenden Organen ein Ausblassen der Farbe zu verhüten, muss man mit etwas Essigsäure ansäuern. (Zitiert nach Rawitz.)

Warmflüssige Gemische.

Dieselben enthalten Leim und müssen vor der Injektion auf 40—45° C. erwärmt werden.

Rote Masse.

Man rühre aus fein gepulvertem Karmin (etwa 4 g) und kaltem Wasser (ca. 8 ccm) einen losen Brei an, dem man so viel

Ammoniak hinzufügt, dass eine gleichmässige Lösung mit dunkel kirschroter Farbe eintritt.

Anderseits lasse man etwa 50 g Gelatine 24 Stunden in destilliertem Wasser aufquellen. Dann presse man das Wasser mit den Händen aus und erwärme die Gelatine auf dem Wasserbade auf etwa 60° C. Ist sie geschmolzen, so füge man unter beständigem Umrühren so viel von dem Karminbrei hinzu, bis sie intensiv dunkelrot ist. In diese deutlich nach Ammoniak riechende Lösung träufele man unter beständigem Umrühren tropfenweise eine etwa 25 proz. Essigsäurelösung so lange, bis die dunkelkirschrote Farbe in eine ziegelrote überzugehen anfängt. Setzt man mehr Essigsäure hinzu, so wird der Niederschlag nicht fein genug. Man erkennt den richtigen Moment der Neutralisation auch daran, dass an Stelle des ammoniakalischen Geruches der Flüssigkeit ein eigentümlich süssliches Aroma, frei von aller Säure, wahrzunehmen ist.

Blaue Masse.

Man stellt sich diese Masse dar, indem man eine konzentrierte Lösung von Berliner Blau in Wasser zu der Gelatine (cf. rote Masse) in der Wärme hinzusetzt.

Anm. Fertige Injektionsmassen sind durch Grübler zu beziehen.

Methode der Injektion.

Zu den für die Injektion nötigen Instrumenten gehört

1. Eine Metallspritze von 100 oder 200 g Inhalt und eine Anzahl geknöpfter Kanülen.

Die Spritze muss gut schliessen, der Stempel darf nicht zu stramm sitzen und muss ohne jeden Ruck ganz gleichmässig vorwärts geschoben werden können[1]).

2. Ein Wasserbad zum Erwärmen der Leimmasse.

3. Eine durch eine Gas- oder Spiritusflamme zu erwärmende Blechwanne zum Einlegen der zu injizierenden Tiere.

(Für kleinere, schnell zu injizerende Tiere genügt auch eine grosse Schale mit warmem Wasser.)

4. Messer, Scheeren, Pinzetten und Klemmer zur Freilegung und Unterbindung des Gefässes.

5. Einige starke gewachste Seidenfäden.

6. Ein Kork zum Verschliessen der Injektionskanüle.

Anm. Statt der Spritzen, deren Stempel man mit der Hand verschieben muss, wodurch zuweilen die Druckintensität geändert wird, kann

[1]) Bei Katsch in München.

man sich, namentlich bei kaltflüssigen Massen, eines Apparates mit konstantem Druck bedienen. Einen solchen Apparat kann man sich nach den Angaben von Toldt leicht mittelst zweier Flaschen, eines Trichters und mehrerer Glasröhren und Gummischläuche herstellen.

Ein auf einem Stativ befestigter und in seiner Höhe verstellbarer Trichter ist mittelst eines Gummischlauches, der durch einen Quetschhahn verschliessbar ist, mit einer Flasche verbunden. Der Hals dieser als Windkessel dienenden Flasche ist durch einen doppelt durchbohrten Gummistopfen verschlossen, in letzterem stecken zwei Glasröhren, von dem die eine mit dem Gummischlauch verbunden ist und bis zum Boden der Flasche reicht, während die andere dicht unter dem Stopfen endet. Sie ist durch einen Gummischlauch mit einem in einer zweiten Flasche steckenden, dicht unter dem doppelt durchbohrten Gummistopfen endigenden Glasrohr verbunden. Die andere Durchbohrung des diese Flasche verschliessenden Stopfens trägt ein bis zum Boden reichendes Glasrohr, welches durch einen Gummischlauch mit der Injektionskanüle in Verbindung steht. Letztere wird durch einen Quetschhahn verschlossen.

Die zweite Flasche wird mit der Injektionsflüssigkeit gefüllt und bei Verwendung warmflüssiger Masse in ein Wasserbad von 40—45 ° C. gestellt. Soll die Injektion beginnen, so giesst man in den Trichter Quecksilber, öffnet zuerst den Quetschhahn des Gummischlauches und dann den mit der Injektionskanüle in Verbindung stehenden Hahn. Sobald Injektionsflüssigkeit aus der Kanüle ohne Luftblasen hervortritt, füllt man die in das zu injizierende Gefäss eingebundene Kanüle mit derselben und steckt nun beide Kanülen fest ineinander.

Durch Höher- und Niederstellen des Trichters kann man den Druck beliebig variieren bezw. regulieren und durch allmähliches Zugiessen von Quecksilber konstant halten (zitiert nach Schmorl).

Nachdem alles zum Injizieren bereit gestellt und das Wasser in der Blechwanne auf 37—38° C. erhitzt worden ist, töte man das zu injizierende Tier und lege das betreffende Gefäss frei. Bevor man nun das Gefäss eröffnet, tut man gut, die zur Ligatur zu benutzenden Seidenfäden jetzt schon mit Hilfe einer Pinzette unterhalb des Gefässes durchzuführen.

Will man z. B. in die Carotis eines Tieres injizieren, so ziehe man einen Seidenfaden unterhalb derselben durch und knüpfe ihn über dem Gefäss zu einer losen Schlinge. Zentral von dem Seidenfaden klemme man die Arterie durch eine Klemmpinzette ab, dann eröffne man die Arterie durch einen Einstich, binde in die Öffnung die Injektionskanüle mit dem vorher schon geschlungenen Seidenfaden fest, und entferne dann die Klemmpinzette.

Um jedes Eindringen von Luft zu verhindern, kann man das Eröffnen des Gefässes unter Wasser vornehmen. Um auch die in der Injektionskanüle vorhandene Luft fortzuschaffen, fülle

man dieselbe vor dem Einbinden mit der Injektionsmasse und verschliesse die Öffnung durch einen kleinen Kork.

Die Spritze, die bei Verwendung warmflüssiger Masse gut angewärmt sein muss, wird dann mit der Injektionsflüssigkeit gefüllt, der Stempel bei senkrechter Haltung der Spritze so weit vorgeschoben, bis die Injektionsmasse ohne Beimengung von Luftblasen abfliesst, und nun wird die Spritze mit der Kanüle fest verbunden und der Stempel unter gleichmässigem Drucke vorwärts geschoben.

Will man vom Herzen aus injizieren, so schneide man den linken und rechten Ventrikel an, und entferne durch sanftes Drücken möglichst viel Blut. Dann bindet man die mit Injektionsmasse gefüllte und durch einen Kork verschlossene Canüle, die man durch den linken Ventrikel in die Aorta führt, dort fest, umschnürt die Aorta descendens, und legt eine dritte Schlinge lose, ohne sie zuzuziehen, um beide Vorhöfe. Man injiziert dann, wie oben angegeben. Zuerst entweicht aus der Schnittöffnung im rechten Ventrikel Blut, später Injektionsmasse. Ist letzteres der Fall, so zieht man die um das Herz gelegte Schnur fest zu. Man injiziert so lange, bis die Konjunktiva der Augen deutlich rot erscheint. Das Tier wird dann aus dem Wasserbad herausgenommen, die Aorta oberhalb der Canüle mit einer vierten Schlinge umschnürt, die Kanüle entfernt, und das Tier mit dem Kopf unter die Wasserleitung gebracht, damit die Masse erstarrt.

Je feiner das Gefäss ist, in das man injizieren will, um so feiner müssen natürlich auch die Kanülen sein. Solche feinsten Kanülen dürfen an ihrem Ende keinen Wulst haben, wie die stärkeren Kanülen ihn besitzen, um das Ausschlüpfen derselben aus der Ligatur zu vereiteln. Ein Wulst würde das Röhrchen nur unnötig dicker machen, und das Herausschlüpfen der Kanüle aus der Ligatur kann man dadurch vermeiden, das man die beiden Enden des Ligaturfadens um das dicke Ende der Kanüle zusammenbindet. Wer noch feinere Kanülen braucht als die der Pravazschen Spritzen, stelle sich solche bis zu kapillarer Feinheit durch Ausziehen aus Glasröhren her.

Für derartige feine Arbeiten kann man natürlich die grossen Metallspritzen nicht brauchen. Hier sind kleine Injektionsspritzen aus Glas angebracht, die zwischen Spritze und Kanüle zweckmässig ein Schaltstück mit einem Hahn besitzen sollen.

Um **Embryonen** zu injizieren, wende man das praktische Verfahren von Wertheim an, dessen er sich bei der Injektion von

Huhn-Embryonen und Forellen-Embryonen bediente. „Zur Injektion wurde eine wässerige Lösung von Berliner Blau ohne Zusatz von Glyzerin benutzt, das die Injektion der feinsten Gefässe etwas erschwert. Als Kanülen dienen kleine Glasröhren, die an einem Ende fein ausgezogen sind, für die kleinsten Embryonen bis zu kapillarer Feinheit, während an dem anderem Ende ein etwa ½ Meter langer Gummischlauch sich befindet. An der Spitze werden die Glasröhren nun abgebrochen, die scharfen Kanten brauchen nicht durch Erhitzen abgerundet zu werden. Zum Füllen der Kanüle nehme man das freie, mit einem Mundstück versehene Ende des Schlauches in den Mund, tauche die Spitze der Kanüle in die Injektionsmasse und fülle durch Ansaugen die Glasröhre mit der letzteren.

Bei ganz kleinen Embryonen sticht man die Kanüle, während der Embryo in seiner natürlichen Lage auf dem Dotter schwimmt, in den sinus terminalis oder in die vena omphalomesenterica ein, ohne vorher das Gefäss angeschnitten zu haben, und blase dann in den Gummischlauch hinein: ein Tropfen genügt, um ein grosses Gefässgebiet zu füllen; geht die Injektionsmasse nicht weit genug, so kann an anderen Stellen des sinus terminalis die Injektion wiederholt werden.

Sind die Embryonen grösser, so ist es vorteilhafter, sie vom Dotter abzuheben und auf einen Objektträger zu legen, weil die stärkerwandigen Gefässe der stechenden Kanüle immer ausweichen, wenn der Embryo auf dem Dotter schwimmt; auch empfiehlt es sich, vor dem Einführen der Kanüle mit einer feinen Nähnadel ein Loch in die Gefässwand zu stechen. Als Einstichpunkt wählt man am besten den bulbus aortae oder, wenn die Gegend der grossen Gefässstämme unverletzt bleiben soll, die Dottersackgefässe. Um bei der Injektion von den letzteren die Injektion auf die Arterien des Kopfes zu beschränken, kann man die beiderseitigen venae jugulares, die bei nicht zu kleinen Embryonen sehr deutlich sichtbar sind, vor der Injektion mit einer Nadel einreissen.

Auch bei der Injektion vom bulbus aortae aus tut man gut daran, die Vene vom Herzen abzuschneiden, da, wenn die Kanüle den bulbus nicht ganz ausfüllt, etwas Injektionsflüssigkeit neben der Kanüle ins Herz zurückfliesst.

Die ganze Prozedur kann man unter der Lupe vornehmen. Das Injizieren durch Blasen mit dem Munde hat den bei der Zartheit der Objekte nicht zu unterschätzenden Vorteil, dass

die eigentliche Injektion in demselben Augenblicke beginnen kann, in welchem die Kanüle eingeführt ist, ohne dass irgend eine Veränderung in der Stellung der Hände einzutreten hat.

Nach Beendigung der Injektion wird der Embryo in Wasser kurz abgespült. Ist bei der Injektion das Amnion erhalten worden, so achte man darauf, ob, was bei jungen Embryonen oft vorkommt, Injektionsmasse in die Amnionhöhle hinein ausgetreten ist. In diesem Falle muss das Amnion sofort eingeschnitten und abgestreift werden, da die Farbstoff-Partikelchen sich frisch sehr leicht durch Abpinseln, später aber ohne Verletzung des Embryos kaum entfernen lassen und dann die Deutlichkeit des Präparates wesentlich beeinträchtigen."

Um **Pupillarmembranen** durch Injektion darzustellen, suche man sich menschliche Embryonen, im Alter von 7 Monaten zu verschaffen. Die Gefässe der menschlichen Pupillarmembran sind grösser, als jene der Säugetiereembryonen.

Die **Arteria centralis corporis vitrei** injiziere man an einer 3—4 Tage alten Katze oder Hund. Dieselbe erhält sich bekanntlich bei diesen Tieren, so lange sie blind sind. Je näher an der Geburtszeit jedoch, desto sicherer gelingt die vollständige Injektion. Auch Pferde- oder Rindsembryonen sind hierfür geeignete Objekte.

Behandlung des injizierten Auges.

Nachdem die Augen injiziert sind und nachdem eventuell die warmflüssige Injektionsmasse abgekühlt und erstarrt ist, werden dieselben enukleiert und in Formol 5 proz. auf 2 Tage gelegt. Ausserdem wird vorsichtig noch etwas Formol mit einer P r a v a z - schen Spritze in den Glaskörper injiziert. Man kann den Bulbus dann aufschneiden und die Hälften in Formol aufbewahren. Noch schönere Präparate erhält man, wenn man den Bulbus nach der Fixation in Alkohol weiter härtet und dann in Terpentin (s. S. 97) durchsichtig macht. Bettet man die gehärteten Bulbi in Celloidin ein, so kann man sich Schnittpräparate herstellen; die Schnitte dürfen aber nicht zu dünn sein. Die allerschönsten Objekte erhält man aber, wenn man aus dem gehärteten Bulbus Iris, Chorioidea und Retina vorsichtig herauspräpariert und zu Flächenpräparaten verwendet.

Die **Retina** haftet manchmal so fest, dass es sehr schwer ist, dieselbe in toto zu entfernen, ohne sie anzureissen. Besonders schwer ist sie vom N. optikus zu lösen. Man schneidet zu diesem Zwecke den Sehnerven mit einer gegen die Fläche gebogenen

Augenscheere, die man mit der konvexen Seite sanft gegen den Bulbus drückt, möglichst tief bis auf die Chorioidea heraus. Man hüte sich aber dabei, die Retina zu verletzen, denn ein in die Papille geschnittenes Loch verunstaltet das ganze Präparat. Hat man so den Sehnerv von der Retina abgetrennt, so gelingt es meist leicht, mit Hilfe einer stumpfen Nadel die Retina vom Rande her gänzlich abzulösen. Kommt man hiermit nicht zum Ziel, so versuche man das auf S. 225 angegebene Verfahren. Derartige schwierige Fälle sind aber selten, gewöhnlich findet man die Retina nicht so fest sitzend, namentlich bei gefässarmen Netzhäuten (z. B. beim Kaninchen).

Die so herauspräparierte Retina besitzt die Gestalt einer Kalotte und muss daher, um auf dem Objektträger ausgebreitet werden zu können, mit einigen radiären Einschnitten versehen werden. Man vermeide es dabei, grössere Gefässe anzuschneiden. Dann wird die Retina, am besten auf dem Objektträger, mit Xylol entwässert und in Kanadabalsam eingeschlossen.

Anm. Nur bei den Säugetieren finden sich Gefässe in der Netzhautsubstanz; in allen übrigen Wirbeltierklassen werden sie vermisst. Eine Ausnahme machen einige Chelonier (W. Müller) und der Aal (Kühne, Denissenko). Nach H. Virchow gehen dieselben beim Fisch von den Gefässen der Hyaloidea aus. Bei Fischen und Amphibien bieten derartige Gefässe in der Hyaloidea meist einen Ersatz für die mangelnden Netzhautgefässe. Sie fehlen unter den Fischen den Selachiern, Stören und Teleostiern (H. Virchow). Unter den Säugetieren sind einige durch sehr geringe Ausdehnung der Netzhautgefässe über die Papille hinaus ausgezeichnet. So besitzt die Retina des Kaninchens und des Hasen Gefässe nur soweit die beiden weissen, markhaltigen Flügel reichen; das Pferd nur innerhalb eines 3—6 mm breiten, die Papille umgebenden Saumes; beim Meerschweinchen finden sich sogar nur einzelne kleine Schlingen in der Gegend der Papille. (Schwalbe.)

Die **Iris** ist verhältnismässig leicht in toto aus dem Auge heraus zu präparieren (s. d.). Bei albinotischen Tieren kann sie ohne Weiteres aufgehellt und in Balsam eingeschlossen werden. Eine pigmenthaltige Iris muss zuvor von dem Pigment befreit werden. (Näheres s. S. 204.)

Was über die Pigmentierung der Iris gesagt ist, gilt auch für die **Chorioidea.** Um den Übergang des Sinus der Wirbelvenen in den intraskleralen Teil derselben an Flächenpräpraten zur Anschauung zu bringen, darf man aber nicht die Aderhaut von der Sklera abziehen, weil dabei die Wirbelnerven abgerissen werden. Es empfiehlt sich vielmehr, Aderhaut und Sklera im Zusammenhang durch Terpentin aufzuhellen. Man kann an

solchen Präparaten die Venen auf ihrem ganzen Verlaufe durch die Sklera verfolgen (Fuchs). (Vergl. auch S. 97.)

Anm. Zu der Untersuchung der Vortexvenen braucht man sonst keine Injektion der Blutgefässe. Mit blossem Auge oder noch besser mit der Lupe findet man leicht die Austrittsstellen der Venen an der äusseren Oberfläche des Augapfels auf. Öffnet man das Auge, zieht man die Netzhaut ab und pinselt man, wenn nötig, das Pigmentepithel von der Aderhaut ab, so treten die Vortices der Aderhaut sofort deutlich hervor. Bei dem Abziehen der Aderhaut von der Sklera kann man leicht die Stelle sehen, wo eine Wirbelvene in die Sklera sich einsenkt. Wenn man daselbst eine Nadel durch die Sklera durchstösst, so dass ihre Spitze an der Aussenseite der Sklera sichtbar wird, kann man den Abstand zwischen Ein- und Austrittsstelle der Vene, also die Länge des Venenkanales in der Sklera messen.

Wenn man die Aderhaut von der Sklera abzieht, bleibt die Stelle, wo ein Vortex auf der Sklera lag, als heller Raum auf dem bräunlichen Grunde ausgespart (Sklera bedeckt von Lamina fusca. Die Lamellen der Suprachorioidea sind hier auf 2—3 reduziert.) (Fuchs).

An der **Sklera** ist besonders interessant der Gefässkranz, welcher die Durchtrittsstelle des Nervus opticus durch die Sklerotika umgibt. Sonst hat die Sklera nur sehr ärmliche Blutgefässe.

Injizierte **Embryonen** werden ebenfalls fixiert, gehärtet und aufgehellt. Sind dieselben schon zu gross, um noch hinreichend durchsichtig zu werden, so kann man die Köpfe durch Sagittalschnitt halbieren und auch wohl die vordere Hälfte des stark pigmentierten Augapfels abtragen, um die Durchsichtigkeit zu erhöhen (Wertheim).

Die injizierten **Augenlider** werden entweder in Querschnitte zerlegt, oder in toto mit Terpentin durchsichtig gemacht und in Kanadabalsam eingeschlossen. Man gewinnt hierdurch sehr übersichtliche Flächenpräparate, doch muss man, um die Lider hinreichend durchsichtig zu bekommen, vorher die Haut abpräparieren. Da aber zahlreiche Gefässchen von der Haut auf die vordere Fläche des Tarsus und durch diesen hindurch an die Bindehaut treten, tut man am besten, die Haut nur bis in die Nähe des freien Lidrandes, wo eben der Übertritt jener Gefässe auf den Tarsus stattfindet, loszupräparieren und herabzuschlagen. Auf diese Weise bleibt die Haut in der Nähe des freien Lidrandes mit dem Tarsus in Verbindung, und der Übertritt der Gefässe aus der Haut auf den Tarsus und durch diesen auf die Bindehaut wird aufs Beste dargelegt (Fuchs).

Für alle injizierten Organe empfiehlt sich die Betrachtung mit dem stereoskopischen Mikroskop.

Japanische Tusche.

Diese ist von T a g u c h i als Injektionsmasse für das Blut- und Lymphgefässsystem des Auges empfohlen worden. Die japanische Tusche hat vor der chinesischen den Vorzug, dass sie sich feinkörniger verreiben lässt. Sie dringt in die feinsten Kapillaren ein. Man verreibt die japanische Tusche auf einem feinen Reibstein mit Wasser, bis man eine schwarze Flüssigkeit bekommt, welche, auf dünnes gutes Löschpapier getropft, zusammenhält und keinen grauen Ring um den Tropfen entstehen lässt. Man injiziert so lange, bis das Präparat ganz schwarz erscheint. Dann wird es auf gewöhnliche Weise gehärtet und weiter behandelt. Bevor es gehärtet ist, darf es nicht mit Wasser in Berührung kommen, weil sonst ein grosser Teil der Injektionsmasse infolge der Verdünnung und wegen der Elastizität der Gefässe teils von der Schnittfläche ausgetrieben, teils in die Gewebe selbst hineingepresst wird.

Korrosionsmethode.

Die Chorioidea und Iris enthalten so viel Pigment, dass dieses die Herstellung eines durchsichtigen Präparates ohne nachfolgende Bleichung nicht gestattet und alles im Gewebe Enthaltene verdeckt. Man bediene sich daher zur Darstellung der Gefässe der von A l t m a n n empfohlenen Korrosionsmethode, zumal wenn es nicht darauf ankommt, das Verhältnis der injizierten Wege zum übrigen Gewebe zu zeigen.

Zu diesem Zweck injiziert man z. B. einen Frosch von der Aorta aus mit Olivenöl, schneidet dann den Bulbus heraus und legt ihn in 1 proz. Osmiumsäure. Nach einigen Stunden trägt man den vorderen Teil des Bulbus dicht hinter der Iris ab und legt die beiden geöffneten Bulbushälften nochmals in Osmiumsäure, damit dieselbe auch von innen her auf die Chorioidea einwirken kann. Dann wird die Chorioidea herauspräpariert und in Aqua Javelli korrodiert.

Zuweilen reichen einige Minuten hin, um die Korrosion zu vollenden, zuweilen sind Stunden erforderlich. Man tut daher gut, das in Eau de Javelle liegende Gewebe ab und zu mit einer Nadel auf seine Festigkeit zu prüfen und nachzusehen, ob sich die einzelnen Teile des Gewebes leicht von einander lösen oder nicht. Durch Verdünnung des Eau de Javelle mit Wasser kann man den Prozess der Korrosion verlangsamen und schonender machen. Das an dem Präparat haftende Eau de Javelle wird

dann auf dem Objektträger mit Fliesspapier abgesaugt, das korrodierte Präparat durch vorsichtiges Auftropfen von Glyzerin gereinigt und schliesslich in Glyzerin eingeschlossen.

Schellackinjektion.

Sehr zu empfehlen für das Studium der Gefässverteilung des Auges ist die zuerst von H o y e r vorgeschlagene Schellackinjektion. H. V i r c h o w benutzte dieselbe mit Erfolg zur Untersuchung des Frosch- und Kaninchenauges, B e l l a r m i n o w gab dann eine ausführliche Beschreibung dieser Methode auch in Anwendung auf die Augengefässe des Menschen, des Affen, des Hundes und der Katze. Seine Beschreibung lautet:

Der gelbe Schellack wird in Spiritus bis zur Sättigung gelöst. Dazu braucht man ungefähr 1 Teil Schellack auf 1½ Teile Spiritus. Bei der Auflösung schüttele man die Flasche möglichst oft um. Nach 24 Stunden stelle man das Gefäss auf 2—5 Stunden in warmes Wasser oder in einen Wärmeofen bei 45—50°, um die noch nicht aufgelösten Schellackreste vollständig aufzulösen. Jetzt filtriere man die Lösung durch 2—3 fach zusammengelegte Gaze. Die auf diese Weise angefertigte Lösung hat die Konsistenz eines Syrups und, indem sie sich bei der Injektion rasch erhärtet, dringt sie nicht durch die Kapillaren hindurch und gibt entweder arterielle oder venöse Injektion, je nach der Stelle, von wo aus man injiziert hat. Diese gesättigte Lösung, 2—3 fach verdünnt, dringt leicht durch die Kapillaren hindurch und gibt bei einem genügenden Druck vollständige Injektion der sämtlichen Gefässe des Auges. Wenn die Injektion mit der verdünnten Lösung von den Venen aus gemacht wird, werden die Arterien mitunter auch injiziert, obwohl nicht vollständig; bei der Injektion von den Arterien aus werden die Venen oft vollständig injiziert.

Für Doppelinjektionen, die man von der Art. Carotis und den V. vorticosae aus vornehme, färbe man die Schellacklösung durch Zusatz von Zinnober und von Berliner Blau. Die Farben werden in einer Porzellanschale mit Spiritus tüchtig verrieben, durch Gaze filtriert und schliesslich mit der Schellacklösung in einer beliebigen Proportion zusammengemischt. Für die feine Injektion des Kapillarnetzes soll die Mischung sahnendick sein.

Die so injizierten Präparate lassen sich gut korrodieren, was besonders für die Präparate der pigmentreichen Chorioidea wichtig ist. Die Schellackmasse wird ziemlich schnell hart, so dass das injizierte Präparat 10—20 Minuten nach der Injektion

für die Untersuchung vollständig fertig ist. Die Augen werden dann herausgenommen und kommen auf 24 Stunden in eine verdünnte Chromsäurelösung (2—3 pro Mille), wo die Gewebe etwas härter werden, was für die Präparation sehr vorteilhaft und bequem ist. Nach der Präparation werden die Präparate sorgfältig mit einem Pinsel abgeputzt und 24 Stunden mit fliessendem Wasser abgewaschen. Die pigmententhaltenden, ebenso wie die dickeren Präparate (Sklera) werden vorsichtig in einer starken Lösung von Eau de Javelle korrodiert. Die Dauer der Korrosion hängt von der Dicke und von der Festigkeit des Präparates ab. Bei der Überkorrosion werden die Gefässwände zerstört, der Schellack wird zerbrechlich und die Präparate unbrauchbar. Nach der Korrosion wasche man die Präparate sorgfältig 12—24 Stunden lang aus.

Nachdem man das Wasser dem Präparate durch Löschpapier entzogen hat, wird das feuchte Präparat, um die Schrumpfung zu vermeiden, zwischen zwei Objektträger gespannt und langsam getrocknet. Jetzt wird das Präparat zwischen zwei Gläser mit Paraffin, schnell trocknendem Lack u. s. w. eingeschlossen und kann so aufbewahrt werden.

Die auf diese Weise angefertigten Präparate geben bei auffallendem Lichte ein sehr schönes, deutlich kontouriertes, plastisches Bild. Für das Studium sowohl bei auffallendem, wie auch bei durchfallendem Lichte werden die gut getrockneten Präparate mit Terpentinöl aufgehellt und in Kanadabalsam eingeschlossen.

Literatur.

Ausser den bekannten Lehrbüchern über mikroskopische Technik, Altmann, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 16. 1879. — Becker, Arch. f. Ophth. Bd. 27. 1. — Bellarminow, Anat. Anz. III. Jahrg. 1888. — Elschnig, Arch. f. Ophth. Bd. 39. IV. — Fuchs, Arch. f. Ophth. Bd. 24. III. — Bd. 30. IV. — Hoyer, Arch. f. mikr. Anat. Bd. XIII. — Hyrtl, Handb. d. prakt. Zergliederungskunst. Buch VI. 1860.— Sitz.-Ber. d. Akad. d. Wiss. Wien 1861. Bd. 43. 1. — Langenbacher, Österreich. Vierteljahresschr. f. wiss. Veterinärkunde. Wien. Bd. 53. 1880. — Leber, Denkschr. d. Kaiserl. Akad. d. Wiss. Mathem.-naturw. Kl. Bd. 24. Wien 1865. — Schwalbe, Anat. d. Sinnesorgane. — Taguchi, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 31. 1888. — Ulrich, Arch. f. Ophth. Bd. 30. 4. — Virchow, Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 35. 1881. — Verhandl. d. phys.-med. Ges. z. Würzburg. 1881. No. 2. — Wertheim, Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. IX. 1892.

B. Lymphbahnen.

Die Untersuchung der Lymphbahnen des Augapfels ist mit Hilfe verschiedener Methoden in Angriff genommen worden:

1. durch direkte Injektion der Spalträume des Augapfels mit nicht diffundierenden Flüssigkeiten. (Schwalbe).

2. durch Injektion von Jodkalium oder Ferrozyankalium mit nachfolgender Fixation des Eisensalzes durch Eisenchlorid, teils in den Glaskörper oder in die vordere Kammer des lebenden oder toten Auges, teils unter die Haut. (Knies, Weiss, Weber, Ulrich, Leplat, Gifford, Nicati etc.).

3. Ehrlich hat in der subkutanen Injektion fluoreszierender Farbstoffe ein wertvolles Mittel entdeckt, die Wege für den Flüssigkeitswechsel im Auge zu verfolgen. Bei seinen Versuchen am Kaninchen verwendete er eine Lösung von 50 g Uranin (einer in Wasser leicht löslichen Ammoniakverbindung des Fluoresceïn, bezogen von Hesterberg, Berlin NW., Louisenstrasse 39) in 250 g Wasser, von welcher er 2 ccm einem grossen Tier subkutan injizierte. Pflüger träufelte zu diesem Zwecke eine ¼ proz. Lösung von Succinylfluorescin, welche ½ pCt. Soda enthält (oder 5 pCt. Lösung der Ammoniakverbindung jener Substanz) in den Conjunktivalsack. Schöler und Uhthoff spritzten obige Uraninlösung in den Glaskörper oder in die vordere Kammer, Ulrich injizierte den Tieren eine Mischung von Fluoresceïn und Ferrocyankalium. Die Tiere wurden getötet, sobald durch Fluoreszenz in der vorderen Kammer der Moment der Abscheidung des injizierten Materiales sicher gestellt war. Das Auge wurde dann in Eisenchloridalkohol gehärtet und so durch Bildung von Berliner Blau die Verbreitung des Eisensalzes fixiert (vergl. auch die Untersuchungen von Schick, Ehrenthal, Panas, Rampoldi, Nicati Gifford etc. Ausführliche Literaturangabe bei Th. Leber. „Der gegenwärtige Stand unserer Kenntnisse vom Flüssigkeitswechsel des Auges." Anat. Hefte. 1894. Bd. 4 und Graefe-Sämisch. II. Aufl. Bd. 2. Kap. 11).

Die direkten Injektionen an herausgeschnittenen Augen zeigen uns nach Schwalbe die normalen gebahnten Wege und belehren uns über etwaige Kommunikationen einzelner Spalträume des Augapfels, können aber über den Ort der Absonderung der intraocularen Flüssigkeit, sowie über die Richtung des Flüssigkeitsstromes innerhalb des Augapfels nichts aussagen, sie erfüllen eine rein **anatomische** Aufgabe.

Ganz andere Ergebnisse liefern die beiden anderen genannten Methoden. Sie operieren mit diffusiblen Substanzen und werden also über rein **physiologische** Fragen, über die Ernährungsverhältnisse des Augapfels und über die Richtung des normalen Flüssigkeitsstromes Auskunft geben.

Uns interessiert hier nur die zuerst genannte Methode. Wir können nach Schwalbe ein vorderes und ein hinteres Lymphstromgebiet unterscheiden. „Das vordere umfasst die Lider, Konjunktiva und Kornea, sowie die angrenzenden Teile der Sklera; es besitzt einfache direkte Abflusswege für die Lider und die Konjunktiva, und einen Lymphraum, die vordere Kammer, welcher mit den episkleralen Venen zu kommunizieren scheint, ausserdem auch noch wahrscheinlich in den Saftkanälchen der Sklera, der Kornea und des Ciliarmuskels Abflusswege besitzt.

Das hintere Lymphstromgebiet schliesst sich unmittelbar an die Verhältnisse des Hirns an. Wir haben es hier mit Saftlücken und Saftkanälchen, sowie mit grossen schalenförmigen Lymphräumen zu tun. Letztere: der Perichorioidealraum, der Tenonsche Raum, der supra- und subvaginale und der perineurale Raum kommunizieren direkt oder indirekt miteinander und münden sämtlich durch Vermittelung des perineuralen, subvaginalen und supravaginalen Raumes, entweder in den Subarachnoidal- oder in den Subduralraum des Gehirns. Von hier aus findet erst der Abfluss in Lymphgefässstämme gewöhnlicher Form statt." (Waldeyer.)

Als Injektionsmasse ist empfohlen worden lösliches Berliner Blau in wässeriger Lösung (1: 20) oder mit Zusatz von Glyzerin, auch Karminleim und eine wässerige Silbernitratlösung (1: 1000) oder Silbernitrat, gelöst in Gelatine (¼ auf 1000). Waldeyer empfiehlt eine terpentinige Alkanninlösung oder den in Terpentin gelösten ätherischen Extrakt der Anacardiumnüsse. Die meiste Verwendung findet Gerotas blaue Masse: Zu 2 g des in Stannioltuben käuflichen „Preussischblau" gibt man 3 g reinen Terpentinöls und, nachdem man das Ganze in einem Porzellanmörser tüchtig verrieben hat, 15 g Schwefeläther hinzu, filtriert sodann durch doppelte feine Leinwand, besser durch Putzleder, und bewahrt die Masse in einer mit einem eingeschliffenen Glasstöpsel verschlossenen Glasflasche auf.

Um die Lymphgefässe zu injizieren, empfiehlt sich das Einstichverfahren mit sehr feinen Kanülen, deren Spitzen unter einem Winkel von 40° zur Längsachse abgeschliffen sind. (Rekordspritze nach Bartels.) Man injiziert mit sehr gelindem Druck.

Zur Injektion der **Lymphgefässe der Augenlider** eignen sich nach Fuchs nur jene Stellen, wo die Bindehaut fester mit der Unterlage zusammenhängt. Dies ist über dem Tarsus, sowie in der Nähe des Limbus corneae der Fall. Diese beiden Orte sind allein für Einstichinjektionen geeignet. Von ersterer Stelle aus kann man die Lymphgefässe der Bindehaut der Lider und des Übergangsteiles, sowie diejenigen auf der Vorderseite des Tarsus, eventuell auch noch einige Lymphgefässe der Haut injizieren, von letzterer Stelle aus füllen sich die Gefässe des **Limbus** und der **Conjunktiva bulbi**. Um die Lymphgefässe der Conjunktiva palpebrarum zu füllen, sticht man die Kanüle einer Pravazschen Spritze unter die Conjunktiva tarsi ein und schiebt sie eine Strecke weit unter derselben vor, damit nicht die austretende Injektionsflüssigkeit aus der Einstichöffnung herausfliesst. Bei dieser Art der Injektion füllt man sehr oft die Blutgefässe (beson-

ders die Venen) statt der Lymphgefässe, häufig auch Blut- und Lymphgefässe gleichzeitig.

Grunert injizierte die Lymphbahnen der Lider (ausser dem konjunktivalen und praetarsalen noch ein Lymphgefässnetz der Lidhaut) von der Haut des Lidrandes aus mit der Gerotaschen Masse.

Die Lymphbahnen der **Trachomdrüsen** bei jungen Ochsen oder Kälbern lassen sich mittelst Einstichinjektion füllen. Man halte sich an den sogenannten Bruch schen Haufen der Trachomdrüsen des unteren Augenlids (Frey).

Die **vorderen Lymphbahnen** des Auges kann man nach Schwalbe durch Injektion in die vordere Augenkammer füllen. Man führt hierzu eine Stichkanüle in schräger Richtung durch die Mitte der Cornea in die Vorderkammer ein und injiziert Berliner Blau oder Karminleim. Nach völliger vorsichtiger Durchbohrung der Cornea fliesst der grösste Teil des Kammerwassers ab; durch die eindringende Injektionsmasse wird aber die hintere Wand des schiefen Stichkanals alsbald wieder fest auf die Stichkanüle aufgepresst, so dass während der Injektion keine Masse sich entleeren kann. Hierbei werden auch die episkleralen Venen gefüllt.

Die **hinteren Lymphbahnen** des Auges kann man vom Perichorioidalraum aus füllen. Dieses gelingt nach Schwalbe am leichtesten an exstirpierten Augen des Schweines und des Menschen, weniger leicht bei kleineren Augen, z. B. denen des Kaninchens, wo die Chorioidea nur eine sehr dünne zarte Haut vorstellt, die man leicht beim Einstich durch die Sklera verletzen kann. Will man die Verbindung des Perichorioidalraumes mit ausserhalb des Augapfels gelegenen Lymphräumen nachweisen, so muss man die Injektion in situ ausführen. Man verfährt dabei so, dass man sich durch Abheben des Daches der Orbita den ganzen Augapfel zugänglich macht.

Es empfiehlt sich (nach Schwalbe), die Stichkanüle in langsam bohrenden Bewegungen einzuführen. Man erkennt das Misslingen des Versuches beim Herausziehen der Stichkanüle leicht daran, dass etwas Glaskörper aus der Öffnung hervorquillt. Die geeignetsten Stellen für den Einstich durch die Sklera liegen in einer Zone, welche etwa in der Mitte zwischen dem Cornealrand und dem Äquator des Augapfels sich befindet. Man wähle aber innerhalb dieser Zone stets einen Ort in der Mitte zwischen zwei austretenden Venae vorticosae, da man bei allzu grosser An-

näherung an letztere leicht eine Verletzung derselben herbeiführen kann. Die Folge davon ist dann natürlich, dass ausser dem Perichorioidalraum auch die Blutgefässe der Chorioidea injiziert werden, dass die Injektionsmasse durch die Venae vorticosae den Augapfel verlässt, in welchem Falle die Injektion als misslungen anzusehen ist. Injektionen in den Perichorioidalraum füllen nach Schwalbe und Waldeyer auch den **Tenonschen Raum** und bei lange fortgesetzten Injektionen unter hohem Druck auch die Saftkanälchen der **Sklera:** „Hat der Druck bei der Einstichinjektion eine gewisse Höhe erreicht, so sieht man vielfach kleine gefärbte Pünktchen auf der äusseren Oberfläche der Sklera erscheinen, und auf mikroskopischen Durchschnitten stellt sich das ganze Saftlückensystem der Sklera mit der Injektionsmasse gefüllt dar, wie das Michel nach direkten Einstichinjektionen in das Skleralgewebe trefflich beschrieben und abgebildet hat. Solche gut gelungenen Einstichinjektionen in das Skleralgewebe zeigen auch, dass die Saftlücken sich in beide grossen Lymphbehälter, in den Perichorioidalraum und in den Tenonschen Raum öffnen." (Waldeyer.)

Den **Perichorioidalraum** kann man auch vom intervaginalen (subvaginalen) Lymphraume aus füllen; auf dieselbe Weise gelingt die Füllung des **supravaginalen** und **Tenonschen Raumes.** Schmidt und Michel konnten auch den **perineuralen Lymphraum** vom subvaginalen Raum aus füllen.

Noch leichter und vollständiger als durch Einstichinjektion durch die Sklera soll man nach Schwalbe, Axel Key und Retzius den Perichorioidalraum und ebenso die Tenonsche Kapsel vom Arachnoidalraum aus füllen können. (Schmidt, Manz, Merian bestreiten dieses.) Nach Schmidt gelingt auf diese Weise auch die Injektion eines von ihm beschriebenen lymphatischen Gefässnetzes in der **Lamina cribrosa sclerae.**

Zu diesem Zwecke lege man ein möglichst kleines Stück der Dura mater eines nicht abgeschnittenen Kopfes vorsichtig bloss und schiebe dann eine womöglich konische Einstichkanüle unter die harte Hirnhaut und injiziere unter mässigem, konstanten Drucke mindestens 5 Minuten lang (beim Kaninchen). Das Gelingen des Versuches erkennt man an dem eintretenden Exophthalmos und dem erhöhten intraokularen Druck.

Durch Injektion von dem subduralen und subarachnoidalen Raum des Gehirns gelingt es auch leicht, die **Lymphscheiden des Optikus** zu füllen. Dabei erfüllt die Injektionsmasse stets beide

Lymphscheiden des Optikus. Setzt man diese Injektion unter die „Tunica fibrosa nervi optici" einige Minuten fort, so tritt die Masse durch dieselbe hindurch auf die äussere Oberfläche der Duralscheide in den supravaginalen Raum (Michel).

Die **Lymphspalten im Innern des N. opticus** kann man leicht injizieren, wenn man eine feine Einstichkanüle vorsichtig zwischen Pialscheide und Optikusstamm führt. Es schiessen dann sofort einzelne längsverlaufene, gefärbte Streifen auf, dann färbt sich nach und nach die der Einstichstelle benachbarte Partie bis zum Augapfel hin und endlich quillt die Injektionsmasse auf der äusseren Oberfläche der Pialscheide hervor in den subarachnoidalen Raum (Schwalbe).

Die Injektion des Sehnerven eines Auges von den Lymphbahnen des anderseitigen Nerven aus gelingt nach Knies am besten an Präparaten, welche ganz frischen Leichen in der Weise entnommen sind, dass beide Augen samt Sehnerv, Chiasma und anliegender Hirnsubstanz herauspräpariert werden. Der Sehnerv des einen Auges wird durchschnitten, in dessen Achse ein 1 cm tiefer Einstich gemacht und in diesen eine stumpfe Kanüle eingebunden; das Präparat wird unter Kochsalzlösung gehalten. Den nötigen Injektionsdruck liefert komprimierte Luft aus einem Spray-Apparat.

Der Nachweis der Lymphkapillarnetze in der **Chorioidea** und **Retina** ist zuerst durch die Oelimprägnation von Altmann gelungen; Man halbiere den Bulbus (Rind, Schwein), entferne den Glaskörper und schneide von vorn nach hinten den Bulbus in zwei gleiche Teile. Die Retina wird unter Wasser abgespült und die Chorioidea mit Pinzette und Scheere von der Sklera vorsichtig getrennt. Die Membranen kommen dann in eine Mischung von Ol. Ricini 2,0 und Alkoh. absol. 1,0 und werden dann durch Schütteln möglichst entfaltet. Nach 8tägigem Aufenthalt darin werden sie in Wasser übertragen, mit Überosmiumsäure (welche das Öl erhärtet und schwärzt) behandelt und mit unverdünntem Eau de Javelle korrodiert (cf. Blutbahnen und Cornea).

Die **perivaskulären Lymphbahnen der Retina** lassen sich nach Schwalbe regelmässig füllen, zugleich mit den Lymphgefässen des Sehnerven, wenn man Berliner Blau oder Alkannin-Terpentin unter die Pialscheide des letzteren injiziert. Besonders schöne Präparate erhält man frisch mit Alkannin-Terpentin, oder nach kurzer (12stündiger) Einwirkung 60 proz. Alkohols auf die

betreffenden Augen (Mensch, Schaf, Schwein, Rind) mit Berliner Blau. Ausser diesen perivaskulären Räumen sieht man nach Schwalbe bei demselben Verfahren auch zahlreiche feine Streifen in radiärer Richtung eine Strecke weit von der Papilla optici ausstrahlen, eine zierliche Strahlenfigur darstellend. Er erklärt dieselbe dadurch, dass hier die Zwischenräume zwischen den Bündeln der Nervenfasern in ähnlicher Weise gefüllt sind, wie innerhalb des Sehnervenstammes; dem radiären Verlauf derselben entsprechend müssen sie in der Retina als radiäre Linien auftreten. Schliesslich soll sich fast immer eine mehr oder weniger grosse Strecke eines schalenförmigen kapillaren Raumes zwischen Membrana limitans interna und Hyaloidea füllen und sehr häufig auch Masse zwischen Pigmentschicht und Stäbchenschicht der Netzhaut eindringen, eine partielle Ablösung derselben herbeiführend.

Über Saftbahnen der **Hornhaut** siehe unter „Cornea." S. 176.

Literatur.

Altmann, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 16. 1879. — Ehrlich, Deutsche med. Wochenschr. 1882. No. 1—3. — Fuchs, Arch. f. Ophth. Bd. 24. III. — Gerota, Anat. Anz. Bd. 12. 1896. — Grunert, Ber. d. 29. Vers. d. ophth. Ges. Heidelberg 1901. — Key u. Retzius, Med. Centralbl. 1871. No. 33. — Knies, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 1882. — Leber, Anat. Hefte. 1894. H. 4. — Manz, Arch. f. Ophth. Bd. 16. I. 1870. — Merian, Arch. f. Anat. Phys. 1898. — Michel, Arch. f. Ophth. Bd. 18. I. 1872. — Pflüger, Klin. Monatsbl. f. Augenheilkunde. 1882. — Schmidt, Arch. f. Ophth. Bd. 15. II. 1869. — Schöler, Arch. f. Anat. Phys. (Phys. Abt.). 1882. — Schöler u. Uhthoff, Jahresber. über d. Wirksamkeit d. Augenklinik von Schöler. 1881. — Schwalbe, Arch. f. mikr. Anat. Bd. 6. 1870. — Graefe-Sämisch. I. Aufl. Bd. 1. 1874. — Lehrb. d. Anat. d. Sinnesorgane. 1885. — Ulrich, Arch. f. Augenheilk. Bd. 12. II. — Waldeyer, Graefe-Sämisch. I. Aufl. Bd. I.

Neunzehntes Kapitel.

Nachweis von fremdartigen Bestandteilen im Augeninnern.

A. Eisen.

Verweilen Eisenteile längere Zeit im Bulbus, so führen sie stets zu ausgedehnten Schädigungen, die unter dem Namen **Siderosis bulbi** (Bunge) bekannt sind. v. Hippel unterscheidet eine direkte Siderosis, d. h. die Eisenablagerung in der unmittelbaren Umgebung des Fremdkörpers von der indirekten Si-

derosis, d. h. der Eisenablagerung entfernt vom Sitze des Fremdkörpers. Letztere kann nach ihm veranlasst sein allein durch den im Auge weilenden Fremdkörper — xenogen — oder durch die bei der Verletzung aufgetretenen Hämorrhagien — haematogen —. Sowohl das xenogene Pigment als auch das hämatogene, das Hämosiderin, färbt sich mit der Perlschen Eisenreaktion blau; nach v. Hippel kann aber ein Teil des hämatogenen Pigmentes auch braun bleiben, so dass es also unter Umständen möglich sein kann, die Siderosis als reine Fremdkörperwirkung von der Siderosis unter Mitbeteiligung des Blutes zu unterscheiden.

Das normale **Augenpigment** gibt die Eisenreaktionen nicht, ebenso wenig das Pigment bei Retinitis pigmentosa. Das Pigmentepithel der Retina besitzt aber nach v. Hippel die Eigenschaft, in der Umgebung vorhandenes, von Hämoglobin abgespaltenes Eisen aufzunehmen und festzuhalten, so dass es durch Blaufärbung mit Ferrozyankalium und Salzsäure nachgewiesen werden kann. Leber benutzt diese Eigenschaft, um Abkömmlinge des Pigmentepithels und Aderhautstromas zu unterscheiden. „Untersucht man nämlich Augen mit Aderhauttumoren, in welchen es vor einiger Zeit zur Entstehung von intraokularen Blutungen gekommen ist, so findet man das aus dem Hämoglobin frei gewordene Eisen im Pigmentepithel und seinen Abkömmlingen, daneben auch in der abgelösten Retina und der Pars ciliaris abgelagert, und es ist höchst überraschend, wie intensiv in solchen Fällen der aus dem Blute stammende Eisengehalt dieser Gebilde werden kann. Da die Stromazellen der Chorioidea wenigstens unter den hier in Betracht kommenden Verhältnissen eisenfrei bleiben, so stellt das Auftreten der Blaufärbung eine scharfe Reaktion dar, um die vom Pigmentepithel herstammenden Zellen zu erkennen."

Die Körnchen des in den Sarkomzellen autochthon gebildeten Pigmentes geben Eisenreaktion bei Abwesenheit von Blutextravasaten, jedoch nur in dem Falle, wenn die Tumorzelle mit dem darin enthaltenen melanotischen Pigment degeneriert ist. (Schieck.)

Das normale Augenpigment wird von Chlorwasser (6×24 Stunden, täglich wechseln) gebleicht, während dieses das pathologische Eisenpigment nicht merklich verändert. Dagegen wird das pathologische Eisenpigment durch 5 proz. Salzsäure (24—48 Stunden) entfärbt, während das normale Augenpigment durch Salz-

säure nicht verändert wird. Chlor und Salzsäure sind also gewissermassen Antagonisten. (v. Hippel.)

Zum Nachweis des Eisens dienen folgende zwei Reaktionen, bei deren Anstellung selbstverständlich nur Glas- oder Platinnadeln, keine Präpariernadeln aus Stahl zur Verwendung kommen dürfen. Das Mikrotommesser muss absolut rostfrei sein.

1. Die Perlsche Reaktion.

Man bringt die Schnitte der am besten in Alkohol, Formol-Alkohol oder Sublimat (nicht Formol) (Falkenberg) fixierten Präparate für einige Minuten in eine 2 proz. wässerige Ferrozyankaliumlösung und hierauf in ½—1 proz. Salzsäure. Untersuchen in Wasser oder Glyzerin. Das eisenhaltige Pigment färbt sich intensiv blau. Zur Herstellung von Dauerpräparaten entwässert man die Schnitte nach der Salzsäurebehandlung in Alkohol und schliesst nach Aufhellung in Balsam ein.

Will man gleichzeitig eine Kernfärbung haben, so verfährt man nach Stieda auf folgende Weise:

a) Färbung der Schnitte in Lithionkarmin (1—2 Stunden),
b) Kurzes Abspülen in Wasser,
c) 2 proz. Ferrozyankaliumlösung (4—6 Stunden),
d) 1 proz. Salzsäure-Spiritus (6—12 Stunden),
e) Kurzes Abspülen in Wasser,
f) Entwässern in Alkohol. — Origanumöl — Balsam.

Man kann auch zuerst die Eisenreaktion anstellen und dann mit Alaunkarmin nachfärben. (Lithionkarmin ist zur Nachfärbung nicht zu gebrauchen, weil durch Lithion das bei der Reaktion gebildete Berliner Blau in Eisenoxyd und Ferrozyankalium zersetzt wird.)

Zalewski empfiehlt, die Reaktion nicht an einzelnen Schnitten, sondern an kleinen Stückchen, entsprechend der Methode der Durchfärbung, anzustellen. Die Methode ist folgende:

a) Konservierung der Stückchen in 65 proz. Alkohol (24 Stunden).
b) Übertragung in 1 proz. (?) Lösung von Ferrocyankalium in 96 proz. Spiritus (2—3 Tage).
c) Übertragung in 1 proz. Lösung von Ferrocyankalium in 65 proz. Spiritus (um das spätere Eindringen der Salzsäure zu erleichtern, ist diese Behandlung mit 65 proz. Spiritus eingeschoben).
d) Übertragung in 1—2 proz. Salzsäurespiritus (Spiritus 96 pCt.) (2—3 Tage).
e) Schneiden etc. Nachträgliche Karminfärbung gelingt sehr gut.

Nach Hall wird das Eisen oft schon bei der Manipulation der Härtung, des Auswaschens u. s. w. den Geweben entzogen. Er

empfiehlt daher als Härtungsflüssigkeit, welche das Eisen in einen unlöslichen Zustand überführt, eine Lösung von:

Schwefelammonium	5 ccm,
Alkohol. absol.	70 „
Wasser	25 „

In dieser Lösung bleiben die kleinen Stückchen 24 Stunden, dann Härtung in Alkohol von steigernder Konzentration. Die anfänglich grünlich gewordenen Gewebsstückchen verbleichen bei Weiterbehandlung wieder, weil das FeS in $(Fe(OH)_2)$; umgewandelt wird. Da dieses schwer sichtbar ist, so muss man für Dauerpräparate nun noch die Reaktion mit Ferrozyankalium anwenden.

In analoger Weise, wie gelbes Blutlaugensalz, kann man für Eisenoxydulverbindungen auch rotes Blutlaugensalz (Blaufärbung) und für Eisenoxydverbindungen auch Rhodankalium (Blutrotfärbung) anwenden, beides mit nachfolgender Salzsäurebehandlung.

2. Die Quinckesche Reaktion.

a) Einlegen der Schnitte in frisch bereitete Schwefelammoniumlösung, bis sie eine dunkel- bis schwarzgrüne Färbung angenommen haben (5—20 Minuten).
b) Rasches Abspülen in Wasser.
c) Untersuchung in schwach schwefelammoniumhaltigem Glyzerin oder Entwässern in Alkohol — Öl — Balsam.

Das Eisen tritt in Gestalt schwarzer oder schwarzgrüner Körnchen hervor. Der Kontakt mit Wasser darf nicht lange dauern, weil bei Entfernung sämtlichen Schwefelammoniums das gebildete Schwefeleisen oxydiert und entfärbt wird. In Folge der Oxydation verlieren überhaupt feine Körnchen sehr bald ihre grüne Farbe wieder.

Der Ausführung der Eisenreaktion kann man eine Kernfärbung mit Lithion- oder Alaunkarmin oder Hämatoxylin vorangehen lassen.

Zalewski empfiehlt auch hier, die Reaktion nicht an einzelnen Schnitten, sondern an kleinen Stückchen anzustellen:

a) Konservierung in 65 proz. Alkohol (24 Stunden).

b) Härtung in 96 proz. Spiritus, dem einige Tropfen starkes, gelbes Schwefelammonium zugesetzt sind. Von Zeit zu Zeit umschütteln! (24 Stunden.)

c) Härtung in Alkohol absol., der mit einigen Tropfen Schwefelammonium versetzt ist.

d) Schneiden etc.

Der Alkohol soll das Gefäss bis zum Rand füllen, um den oxydierenden Einfluss der Luft auszuschliessen. Korkpfropfen dürfen zum Verschluss nicht angewandt werden, weil sie schon an und für sich mit Schwefelammonium eine Eisenreaktion geben. In schwefelammoniumhaltigem Alkohol können die Stücke lange Zeit aufbewahrt werden.

B. Kupfer.

Zum Nachweis von Kupfer behandelt man die Präparate wie bei der Perlschen Reaktion zum Nachweis von Eisen, mit Ferrozyankalium und Essigsäure. Kupferhaltige Teile werden dann braunrot durch Fällung von Ferrozyankupfer.

C. Quecksilber.

Um Quecksilber, welches eventuell nach subkonjunktivalen Sublimatinjektionen ins Augeninnere resorbiert sein könnte, nachzuweisen, benutzte Stuelp die Elektrolyse. Nach Kokainisierung des Auges wurde ein Teilstrich einer Pravazschen Spritze mit einer 1 proz. Sublimatlösung gefüllt, injiziert, und die Injektion nach 36 —48 Stunden wiederholt. 24 Stunden nach der 3. Injektion wurden die Augen enukleiert. Das Kammerwasser wurde mit einigen Tropfen einer schwachen Salzsäurelösung versetzt und direkt der Elektrolyse unterworfen. Die Glaskörper, die Linse, Aderhaut und Netzhaut wurden in kleinen Mengen verdünnter Salzsäurelösung zerkleinert und erst nach 24 stündigem Stehen in den Strom eingeschaltet. Um die organischen Substanzen zu zerstören, wurden die Augenteile mit einigen Körnchen chlorsaurem Kali's gekocht. Damit bei dem Kochen nicht etwa vorhandenes Quecksilber mit verdampfte, wurde der Kork des Kochkölbchens mit einem Glasröhrchen versehen, an dessen kalten Wänden sich die entweichenden Dämpfe niederschlugen. Dieses Röhrchen konnte dann in der weiter unten beschriebenen Weise mit Joddämpfen auch auf Quecksilber untersucht werden. Die so vorbereiteten Augenteile werden in eine Glasröhre A gebracht, deren unteres Ende mit einer porösen Membran (Pergamentpapier) geschlossen ist. Diese Zelle A wird in eine zweite mit stark verdünnter Schwefelsäure versehene Zelle B so hineingehängt, dass das Niveau der beiden Flüssigkeiten annähernd gleich hoch steht. In der Zelle A befindet sich ein mit einem Platinleitungsdraht versehenes Goldplättchen, in der Zelle B ein mit einem gleichen Leitungsdraht armiertes Plättchen aus Platinblech. Diese beiden Plättchen müssen möglichst

nahe übereinander liegen und sollen nur durch die Membran getrennt sein. Der Leitungsdraht des Goldplättchens wird mit dem negativen (Zink-) Pol, der des Platinplättchens mit dem positiven (Kohle-) Pol eines Elementes verbunden und so der Strom geschlossen.

Das in der Zelle A in irgend einer Verbindung befindliche Quecksilber schlägt sich auf dem Goldplättchen nieder. Nach ca. 24 Stunden spült man das Goldplättchen mit destilliertem Wasser ab, trocknet es und bringt es in ein schmales, peinlichst gesäubertes und ausgeglühtes Glasröhrchen. Die Enden des Röhrchens werden dann zugeschmolzen und nun die Stelle des Röhrchens, an welcher das Goldplättchen liegt, vorsichtig erwärmt. Hierbei verdampft das an letzterem anhaftende Quecksilber und schlägt sich an den nächstgelegenen kälteren Teilen der Glaswand in Form feinster Tröpfchen nieder, welche man mit der Lupe leicht als Quecksilbertröpfchen erkennen kann.

Handelt es sich jedoch um den Nachweis minimalster Spuren von Quecksilber, so ist noch folgendes Verfahren notwendig: Man feilt nach dem Erwärmen der betreffenden Stelle des Glasröhrchens dieses an einem Ende wieder auf, nimmt das Goldplättchen heraus, bringt ein kleines Körnchen krystallinischen Jods hinein und schmilzt das Röhrchen wieder zu. Sodann erwärmt man wieder leicht die Stelle, an welchem jetzt das Jodkörnchen liegt, so dass die Joddämpfe über die Stelle streichen, an welcher sich vorher das verdampfte Quecksilber niedergeschlagen hatte. Die Joddämpfe gehen mit diesem Quecksilberniederschlage eine feste Verbindung von rotem Quecksilberjodid ein, während die überflüssigen Joddämpfe sich nach dem Erkalten wieder zu feinen, blauschwarzen Krystallen verdichten."

Die Amalgamierung mittelst Elektrolyse ist wegen der häufigen Polarisation des elektrischen Stromes ein ziemlich unsicheres Mittel. Besser ist nach Addario die Methode von Jannasch:

Man bringt den Humor aqueus in eine kleine Porzellanschale und fügt demselben eine gleiche Menge konz. chlorfreier HNO_3 zu; das Ganze dampft man im Wasserbade zur Trockenheit ab. Der Rückstand wird in rauchender HNO_3 aufgelöst und von Neuem zum Trocknen verdampft. Die letztere Salpetersäureeinwirkung muss zwei oder drei Mal wiederholt werden, um jeden Rest von organischer Substanz zu zerstören. Den Rückstand löst man in dest. Wasser auf und filtriert, wenn die Lösung nicht klar ist. In das Filtrat legt man ein kleines, gut abgeflachtes Kupfer-

plättchen von 3—4 mm, das man mit verd. HNO_3 abgerieben und dann gut abgetrocknet hat. Nach 24 Stunden nimmt man das amalgamierte Kupferstück heraus und trocknet es ohne zu reiben, ab. Man gibt dann in ein reines und trocknes Glasröhrchen von etwa 15 cm Länge und 3 mm Weite, das an einem Ende verschlossen ist, zwei bis drei Körnchen $CaCl_2$ und ein Körnchen Jod, füllt die Röhre auf 5—6 cm Höhe mit Glaswolle an und legt auf letztere das amalgamierte Kupferstückchen. Das obere Ende der Röhre schliesst man an der Lampe und wartet 24 Stunden ab, wonach man in der Nähe des Kupfers einen rubinroten Ring von HgJ_2 bemerkt, der mit blossem Auge bis zu 0,00001 g $HgCl_2$ erkennen lässt.

Literatur.

Addario, Arch. f. Ophth. Bd. 48. II. 1899. — Bunge, Verh. d. intern. med. Kongr. Berlin. Bd. 3. 1890. — Falckenberg, Centralbl. f. allgem. Path. Bd. 15. 1904. — Hall, Arch. f. Phys. 1896. — Hertel, Arch. f. Ophth. Bd. 44. II. 1897. — v. Hippel, Arch. f. Ophth. Bd. 40. I. — Bd. 42. IV. — Leber, Arch. f. Ophth. Bd. 44. III. 1897. — Perls, Virchows Arch. Bd. 39. — Quincke, Arch. f. exper. Path. Bd. 37. — Arch. f. klin. Med. Bd. 27. — Schieck, Melanosarkom d. Uvealtrakt. Wiesbaden 1906. — Schmidt, Arch. f. Ophth. Bd. 46. III. — Sgrosso u. Scalini, Annali di Ottalm. 12. — Giorn. med. de re essercito. 1893. — Stieda, Centralbl. f. path. Anat. Bd. 4. — Stuelp, Arch. f. Augenheilk. Bd. 31. 1895.

Zwanzigstes Kapitel.

Ophthalmobakteriologie.

A. Deckglastrockenpräparat.

1. Entnahme und Verarbeitung des Materiales.

Konjunktiva. Das Konjunktivalsekret ist im Höhepunkt der Erkrankung zu entnehmen, und zwar mittelst einer ausgeglühten Platinschlinge am besten aus der oberen Übergangsfalte, da es hier am wenigsten verunreinigt ist. Weniger rein ist das Sekret aus der unteren Übergangsfalte, und am meisten (mit Staphylokokken und Xerosebazillen) verunreinigt das Sekret im inneren Lidwinkel. Vorherige Waschungen, Einträufelungen etc. sind zu vermeiden, weil sich hierbei dem Sekrete der Bindehaut die Verunreinigaungen, welche an den Lidrändern und in den Augenlidwinkeln vorzukommen pflegen, hinzugesellen, wodurch

die Endresultate in ungünstiger Weise beeinflusst werden können. (P e s).

Zur Untersuchung wird die Sekretflocke möglichst fein auf dem sorgfältig gereinigten Objektträger ausgestrichen. Das lufttrocken gewordene Präparat wird fixiert, indem man es, mit nach oben gerichteter Schicht, 3 mal schnell durch die Flamme zieht. Zu starke Erhitzung ist zu vermeiden! Dann wird gefärbt.

C o r n e a. Das Auge wird mit sterilisiertem Kokain unempfindlich gemacht, etwa der Hornhaut aufliegendes Sekret mit sterilem Tupfer entfernt und nun mit der Spitze einer sterilen Lanze oder Platinnadel etwas vom progressiven Geschwürsrande abgekratzt. Man hüte sich dabei vor Weiterverimpfung des infektiösen Materiales und wende sofort nach der bakteriologischen Diagnose die entsprechende Therapie an (Zink bei Diplobazillen, Galvanokaustik bei Pneumokokken).

B u l b u s i n h a l t. Zur Untersuchung des Kammerwassers am lebenden Auge geht man schräg durch die Cornea mit einer feinen Spritzenkanüle ein und benutzt das Wasser, welches sich von selbst in die Spritze entleert.

Um Material aus enukleierten Augen zu entnehmen, senge man die zum Einstich benutzte Stelle vorher oberflächlich mit dem Galvanokauter ab, um Verunreinigungen auszuschliessen.

K o n k r e m e n t e, F o l l i k e l i n h a l t und ähnliches zähes, kompaktes Material wird von der Untersuchung zwischen zwei sterilen Objektträgern zerdrückt, oder mit sterilen Nadeln in steriler physiologischer Kochsalzlösung zerzupft.

S c h u p p e n der Lidhaut werden durch Heftpflaster erweicht, mit dem Pflaster abgehoben, von diesem durch Benzin oder Xylol entfernt. Entfettung des Materiales durch Einbringen in Alkohol oder Ätheralkohol auf 1—2 Tage, Zerzupfen in Aq. dest. oder Kochsalzlösung auf dem Objektträger, fein verteilen, trocknen, fixieren durch Erhitzen und färben, vorteilhaft nach P i c k - J a c o b s o h n (U n n a).

Man kann auch die Färbung in vivo auf den abzukratzenden Hautpartien vornehmen, abkratzen und in Glyzerin untersuchen.

2. Färben.

Auf das in der Flamme fixierte Präparat bringt man vermittelst einer Pipette einige Tropfen der Farblösung, färbt 1—2—3 Minuten und wäscht dann in Wasser ab, indem man den Objektträger oder das Deckglas (das man in einer C o r n e t schen Pinzette fixiert hat) in einer Schale mit Wasser hin- und herbewegt, bis es keine Farbe

mehr abgibt. Dann trocknet man mit Fliesspapier ab, oder zieht das Präparat mehrmals über der Flamme hin- und her. Schliesslich Einschluss in säurefreiem Kanadabalsam.

Als Farbflüssigkeiten dienen:

a) Löffler sche Methylenblaulösung. Zu 100 ccm Wasser, in welchem 1 ccm 1 proz. Kalilauge enthalten ist, setzt man 30 ccm konzentr. alkohol. Methylenblaulösung. Färbezeit ½ bis 1 Minuten. Abspülen mit Wasser.

b) Karbolfuchsin. Zu 10 ccm Aq. dest. träufelt man 10—20 Tropfen Karbolfuchsin nach Ziehl:

Fuchsin	1,0
Alkohol absol.	10,0
5 proz. Karbolwasser	100,0

Färbung einige Sekunden bis 1 Minute. Bei Überfärbung Differenzieren mit dünnem essigsaurem Wasser, darauf gut abspülen.

Lösung a und b sind sehr haltbar, und als Universalfärbemittel zu empfehlen.

c) Doppelfärbung nach Pick-Jacobsohn. 4—10 Sekunden in:

konzentr. alkoh. Methylenblau	8 Tropfen
Karbolfuchsin	15 Tropfen
Aq. dest.	20 ccm

Bakterien dunkelblau, Zellkerne hellblau, Protoplasma und Schleim rot.

Nimmt man anstatt 15 Tropfen Karbolfuchsin 45—50, und färbt 5 Minuten lang, so färben sich auch die Kerne rot, und nur die Bakterien erscheinen dunkelblau (C. Fränkel).

d) Thioninmethode nach Nicolle, für schwer färbbare Keime (Koch-Weeksscher Bazillus). Färben ½—1 Minute in Thionin, gesättigte Lösung in 50 proz. Alkohol 10,0, 1 proz. Karbolwasser 100,0. Kerne blau, Bakterien rötlich.

e) Die Gramsche Färbung (Modifikation von Jadassohn) ist besonders wichtig, weil sie sofort ein ganze Anzahl von Differentialdiagnosen ermöglicht.

α) Färbung 25 Sekunden in Anilinwassergentianaviolett:

5 proz. wässerige Lösung von Gentianaviolett	88,0
Ol. Anilin. pur.	2,0
Alkohol absol.	10,0

Vor dem Gebrauch filtrieren.

β) Abspülen mit Wasser.

γ) Beizen mit Lugolscher Lösung (Jod 1,0, Jodkalium 2,0, Wasser 300,0) 15 Sekunden. Das Präparat muss einen schwarzbraunen Farbenton angenommen haben. Ohne Abspülen.

δ) Alkohol absol. solange, bis keine Farbwolken mehr abgehen.

ε) Abspülen mit Wasser.

ζ) Nachfärben 5 Sekunden mit 5 proz. wässeriger Safranin- oder dünner Fuchsinlösung.

η) Gründliches Abspülen mit Wasser, Trocknen, Kanadabalsam.

Man kann die Entfärbung beschleunigen, wenn man die Präparate aus absol. Alkohol für 10 Sekunden in 3 proz. Salpetersäurealkohol und dann wieder in reinen Alkohol zurückbringt. (Günther).

Anstatt Gentianaviolett kann man auch Methylviolett nehmen. (Vergl. Gramsche Methode an Schnittpräparaten.

Es färben sich nach Gram positiv (blau): die meisten Sarzinen; Staphylokokken, Streptokokken, Pneumokokken; Bazillen der Diphtheriegruppe, Subtilisgruppe; Bac. perfringens (Chaillous); Aspergillus fumigatus, Streptotricheen und Aktinomyceten.

Es entfärben sich nach Gram (rot — Kontrastfarbe): Koch-Weeks Bazillen, Pfeifersche (L. Müllersche) Bazillen (Influenzabazillen), Diplobazillus Morax-Axenfeld und Diplobazillus Petit, Gruppe des Bacterium coli, Gonokokken, Meningokokken, Mikrococcus catarrhalis, Bac. pyocyaneus, Gruppe des Friedländerschen Pneumoniebazillus.

f) Die Färbung nach Giemsa (s. S. 156) ermöglicht das Studium der Strukturverhältnisse der Bakterien.

g) Kapselfärbungen.

a) Methode von Johne. 1. Erwärmen mit 2 proz. wässeriger Gentianaviolettlösung bis zur Dampfentwicklung. 2. Abspülen in Wasser. 3. Entfärbung 10 Sekunden in 1—2 proz. Essigsäure. 4. Auswaschen. 5. Untersuchung in Wasser. Bakterien dunkelblau. Kapsel hellblau.

b) Methode von Friedländer. 1. 1 proz. Essigsäure 2 Minuten lang. 2. Abspülen, Trocknen. 3. Gesättigte Anilinwassergentianaviolettlösung, einige Sekunden. 4. Abspülen. Abtrocknen. Kanadabalsam. — Resultat wie bei a.

c) Methode von Muir (für Pneumokokken angegeben). 1. Die Präparate kommen für 2 Minuten in 20 proz. Tanninlösung 2 ccm, gesättigte wässerige Quecksilberchloridlösung 2 ccm, gesättigte wässerige Kalialaunlösung 1 ccm. 2. Auswaschen in Wasser, dann in Alkohol und

wieder in Wasser. 3. Färben in Karbolfuchsin 2 Minuten unter Erwärmen bis zur Dampfbildung. 4. Auswaschen in Wasser; nochmals 2 Minuten mit Lösung 1 behandeln und wieder waschen. 5. Färben 2 Minuten in gesättigter wässeriger Methylenblaulösung. 6. Auswaschen in Wasser. Differenzieren und Entwässern in Alkohol. Balsam. — Bakterien rot, Kapseln blau.

h) Geisselfärbung.

a) Löfflers Methode. 1. Zu 10 ccm einer wässerigen Tanninlösung (20: 80) werden so viel Tropfen kaltgesättigter, wässeriger Ferrosulfatlösung (ca. 5 ccm) zugesetzt, bis die Flüssigkeit schwarz-violett erscheint; dann wird 1 ccm wässerige oder alkohol. Lösung von Fuchsin zugesetzt. Mit dieser Beize wird das Deckglastrockenpräparat unter vorsichtigem Erwärmen über der Flamme behandelt, bis Dampfentwicklung eintritt, dann wird das Deckglas noch 1—1½ Minuten mit der Beize in Kontakt gelassen. 2. Abspülen in Wasser. 3. Abspülen ganz kurz in 96 proz. Alkohol. 3. Schnelles Trocknen durch Blasen. 5. Nachfärben mit Ziehlscher Lösung unter Erwärmen bis zur Dampfbildung und Einwirkenlassen der Farbflüssigkeit 5 Minuten lang, oder nach Czaplewski mit einer gesättigten Anilinwasser-Fuchsinlösung, welche durch tropfenweisen Zusatz einer 1 proz. Na OH-Lösung neutralisiert ist. Es wird so lange Na OH-Lösung zugesetzt, bis die an und für sich in einer mehrere Zentimeter dicken Schicht noch durchsichtige Flüssigkeit anfängt, undurchsichtig zu werden. Diese Farbflüssigkeit wird auf das Deckglas aufgetropft und letzteres etwa 1 Minute lang erwärmt, bis Dampfbildung auftritt.

b) Methode von Luca Valenti. Aufträufeln von 2—3 Tropfen einer 20 proz. Gerbsäure. Abspülen. Dann mit Ziehlscher Lösung kurze Zeit erwärmen, abspülen, trocknen. Balsam.

i) Sporenfärbung.

Methode von Möller. 1. Fixieren des Deckglaspräparates durch dreimaliges Durchziehen durch die Flamme oder 2 Minuten langes Eintauchen in Alkohol absol. 2. Eintauchen in Chloroform, 2 Minuten lang. 3. Abspülen mit Wasser. 4. Eintauchen in 5 proz. Chromsäurelösung, ½—2 Minuten. 5. Gründliches Abspülen in Wasser. 6. Auftropfen von Karbolfuchsin, Erwärmen über der Flamme, unter einmaligem Aufkochen, 1 Minute lang. 7. Abgiessen des Karbolfuchsin, Entfärbung in 5 proz. Schwefelsäure. 8. Gründliches Auswaschen in Wasser. 9. Färbung 30 Sek. lang in wässeriger Lösung von Methylenblau oder Malachitgrün. 10. Abspülen, trocknen. Balsam.

B. Schnittpräparat.

Als Fixierungsmittel für Augenpräparate, die auf Bakterien untersucht werden sollen, eignen sich Alkohol, Formol und Sublimat. Paraffineinbettung ist der Celloidineinbettung vorzuziehen, weil letzteres sich meist intensiv mitfärbt. Karbolxylol zur Aufhellung ist zu vermeiden (s. S. 94). Für die Färbung kommen im

allgemeinen dieselben Methoden in Betracht, wie für die Deckglastrockenpräparate. Nur sind gewisse Modifikationen von Vorteil.

a) Weigertsche Modifikation der Gramschen Färbung s. S. 140. Dieselbe ist zugleich eine Fibrinfärbung. Spaltpilze und Fibrin färben sich tiefblau.

b) Löfflers Modifikation der Gramschen Färbung:

1. Färbung mit einer 10 proz. Lösung von Methylviolett 6 B oder B N in 1—2½ proz. Karbolwasser. Die Schnitte kommen aus dem Alkohol direkt in die Farblösung und bleiben darin 2—10 Minuten.

2. Gründliches Abspülen mit Wasser.

3. Jodjodkaliumlösung (2 Minuten) oder Unnas Jodkaliumwasserstoffsuperoxydgemisch. (Man bringt unmittelbar vor Gebrauch ein kleines Stückchen Jodkali in Wasserstoffsuperoxyd).

4. 5 proz. Salpetersäure, resp. Schwefelsäure (1 Minute), oder 3 proz. Salzsäure-Alkohol (10 Sekunden).

5. Absol. Alkohol oder 30 proz. Aceton-Alkohol bis zur vollständigen Entfärbung.

6. Xylol, Balsam.

Zur Kontrastfärbung kann man die Schnitte nach der Entfärbung kurze Zeit in eine verdünnte Fuchsinlösung bringen und dann in Alkohol auswässern. Eine sehr schöne Färbung wird erzielt, wenn man zu 10 ccm der Karbol-Methylviolett — 6 B — Lösung 1 ccm alkohol. Methylenblaulösung hinzugiebt.

Diese Methoden eignen sich für alle nach Gram färbbaren Mikroben (z. B. Pneumokokken bei Ulcus serpens). Für die nach Gram sich entfärbenden Mikroben, die sich im Schnittpräparat dem Nachweis leicht entziehen, dienen folgende Methoden:

c) Löfflers Methylenblaufärbung.

1. Färben in warmen Löffler schen Methylenblau (s. S. 301) im zugedeckten Uhrglas 1—24 Stunden im Brutofen. 2. Eventuell 10—20 Sekunden in 0,5—1 proz. Essigsäure. 3. Alkohol, Xylol, Balsam.

d) Fuchsinfärbung nach Pfeiffer. 1. Färben ½ Stunde lang oder länger in Karbolfuchsinfärbung (s. S. 301) 1:20 Aq. dest.

2. Auswaschen in einer Schale dest. Wassers, dem 1 Tropfen Eisessig zugesetzt ist, bis der Schnitt grauviolett aussieht. 3. Alkohol Öl, Balsam.

e) Thioninfärbung nach Nicolle.

Färbung 2—5 Minuten lang in der Nicolleschen Lösung (s. S. 301). Abspülen mit Wasser, Alkohol, Xylol, Balsam.

f) Polychromes Methylenblau nach E. Fränkel. 1. Färben (eventuell Stunden lang) in polychrom. Methylenblau. 2. Differenzieren in Unnaschem Tannin-Orangegemisch (Grübler). 3. Auswaschen. Alkohol. Öl. Balsam.

Kerne und Bakterien blau, rote Blutkörperchen orange, kollagenes Gewebe farblos.

g) Polychromes Methylenblau nach Zieler 1. Fixierung am besten mit Müller-Formol. 2. Paraffin- oder Celloidineinbettung. Im letzteren Fall muss das Celloidin vor der Färbung aus den Schnitten entfernt werden. 3. Färben 8—24 Stunden in Pranters Orceinlösung (Orcein D. Grübler 0,1 g Offizin. Salpetersäure 2,0 ccm, 70 proz. Alkohol 100,0). 4. Kurzes Abspülen in 70 proz. Alkohol. 5. Abspülen in Wasser. 6. Färben in polychromem Methylenblau 10—30 Minuten bis 2 Stunden. 7. Abspülen in dest. Wasser. 8. Gründliches Differenzieren in Unna's Glyzerinäthergemisch. 9. Gründliches Abspülen in Wasser. 10. 70 proz. Alkohol, absol. Alkohol, Xylol, Balsam — Bakterien und Kernstrukturen dunkelblau, Protoplasma hellgraublau, elastische Fasern rotbraun, Untergrund farblos.

h) Giemsalösung nach Schridde (S. 158). May-Grünwaldsches Gemisch nach Zieler (S. 158). Methylgrün-Pyroninfärbung nach Pappenheim (S. 157).

C. Spezielle Färbungen.

1. Gonokokken

entfärben sich nach Gram.

a) Deckglastrockenpräparat. Färbung mit Löfflerschem Methylenblau (S. 301), nach Pick-Jacobsohn (S. 301), nach May-Grünwald (S. 158) und Unna-Pappenheim (S. 130).

b) Schnittpräparat.

Methode von Finger und Jadassohn. 1. 5—10 Minuten Färbung in Boraxmethylenblau nach Sahli (5,0 Borax und Methylenblau, 100,0 Wasser). 2. 1—2 Minuten Entfärben in ½ proz. Essigsäure. 3. Alkohol absol, Xylol, Balsam.

Methode von Fick. Die dünnen Paraffinschnitte werden nach sorgfältigstem Auswaschen des Alkohols in Wasser, 4—6 Minuten in polychromem Methylenblau gefärbt und darauf

nach abermaligem Auswaschen in Wasser in 95 proz. Alkohol so lange differenziert, bis das Protoplasma der Epithelzellen eine ganz schwachblaue Färbung zeigt. Diese Prozedur des Differenzierens dauert allerdings 1—2 Stunden, man braucht dieselbe aber nicht ängstlich zu überwachen.

Methode von Homberger. Die Schnitte verbleiben einige Minuten in einer 1 proz. Kresylechtviolettlösung, werden in Alkohol übertragen, darauf kommen sie in Anilinölxylol 2:1, Xylol, Balsam.

Übrigens bewährt sich diese Methode auch für Trockenpräparate. Man benutzt dazu Kresylechtviolett 1:10000. Die Kerne heben sich schwach blau von den rotvioletten Gonokokken ab.

2. Diphtheriebazillus (Löffler).

Derselbe wird nach Gram nur dann entfärbt, wenn man zu starke Entfärbung anwendet. Von differentialdiagnostischer Bedeutung ist die Färbung von Neisser auf metachromatische Polkörnchen.

1. Färben der Deckglastrockenpräparate 1—3 Sekunden lang in Methylenblau 1,0, 96 proz. Alkohol 20 ccm, dazu Aq. dest. 950,0, Eisessig 50 ccm. 2. Abspülen in Wasser. 3. Färben 3—5 Sekunden lang in filtrierter, bei Kochen hergestellter wässeriger Lösung von Bismarckbraun 2:1000. 4. Abspülen, Trocknen, Balsam. — Der Leib der Diphtheriebazillen ist braun, die 2—3 an den Polen auftretenden Polkörnchen blau gefärbt.

Neissers verbesserte Polkörnchenfärbung 1. Färben 1 Sekunde (nach Scheller 10—15 Sekunden) in frisch bereitetem Gemisch von 2 Teilen Lösung A und 1 Teil B.

A.	Methylenblau	1,0
	96 proz. Alkohol	20,0
	Aq. dest.	1000,0
	Eisessig	50,0
B.	Kristallviolett Höchst	1,0
	Alkohol	10,0
	Aq. dest.	300,0

2. Abspülen in Wasser.

3. Nachfärben mit filtrierter Lösung von 1,0 Chrysoidin in 300,0 heissem Wasser (3 Sekunden).

4. Abspülen mit Wasser. Trocknen. Balsam.

3. Tuberkelbazillen.

Man unterscheidet 2 Formen von Tuberkelbazillen: a) die nach Ziehl färbbare; b) die granuläre nur nach Gram darstellbare Form des Tuberkulosevirus.

Methode nach Ziehl-Neelsen.

1. Färbung mit Karbolfuchsin (S. 301) unter Erwärmung bis zur Dampfentwicklung (2 Minuten).

2. Entfärben in 25 proz. Schwefelsäure, 20 proz. Salpetersäure oder salzsaurem Alkohol (90 proz. Alkohol 100 ccm, Aq. dest. 200 ccm, reine Salzsäure 20 Tropfen) (5 Sekunden).

3. Auswaschen in 60 proz. Alkohol.

4. Kontrastfärbung mit wässeriger Methylenblaulösung (1½ bis 2 Minuten).

5. Abwaschen mit Wasser. Trocknen mit Fliesspapier. Balsam.

Schnittpräparate (am besten Fixation in Sublimat + 5 proz. Eisessig oder Zenkerscher Flüssigkeit) bleiben 20 Minuten bis zu mehreren Stunden im Brutschrank. Entfärbung, bis das Präparat blass ist. Sorgfältiges Auswaschen. Methylenblau 5 Minuten oder Hämatoxylin. Abspülen mit Wasser. Alkohol absol. Aufhellen. Balsam.

Borrelsche Methode. Einbetten in Celloidin oder Paraffin. Vorfärbung der Schnitte mit Hämatoxylin. Differenzieren. Färbung 24 Stunden bei Zimmertemperatur in Karbolfuchsin. Abspülen in Wasser. Einlegen 20—30 Sekunden in 20 proz. wässeriges, salzsaures Anilin. Differenzieren in 96 proz. Alkohol, Karbolxylol, Balsam.

Ehrlichsche Methode. 1. Färben in Anilinwasserfuchsinlösung (resp. Anilinwassergentianaviolett) (S. 301) (3—5 Minuten). 2. Entfärben in 20 proz. Salpetersäure oder 3 proz. Salzsäure ($^1/_2$—1 Minute). 3. Auswaschen in 70 proz. Alkohol, bis kein Farbstoff mehr abgeht. 4. Nachfärben in Methylenblaulösung oder Bismarckbraun ($1^1/_2$—2 Minuten). 5. Auswaschen in Wasser. Abtrocknen mit Fliesspapier. Balsam — Schnittpräparate werden länger gefärbt.

Gramsche Färbung in der Modifikation von Much zur Darstellung der granulären Tuberkelbazillen.

Von den 3 angegebenen Färbungsmethoden ist die zweite, bezüglich der Niederschläge sicherste, folgende. Die Färbung hält bisweilen nur 24 Stunden.

1. Methylviolett B N. (10 cm^3 gesättigte alkohol. Lösung in 100 cm^3 2 proz. Karbolwasser; stets frisch filtrieren!), am besten 24 Stunden bei Zimmertemperatur (Objektträger aufrecht stellen) oder Erwärmen (Dampfbildung) 1—2 Minuten über die Flamme.

2. Jodierung mit Lugolscher Lösung (10—15 Minuten).

3. 5 proz. Salpetersäure (1 Minute).

4 3 proz Salzsäure (10 Sekunden).

5. Aceton-Alkohol $\overline{aa}$, Entfärbung so lange, bis kein Farbstoff mehr abfliesst.

6. Abtrocknen mit Fliesspapier.

7. Eventuelle Gegenfärbung mit stark verdünntem Karbolfuchsin oder 1 proz. Safraninlösung (5—10 Sekunden).

(Statt der Gegenfärbung bewährt sich nach Wehrli noch besser Vorfärben mit Alaunkarmin unter Erwärmen).

Ziehl-Gramsche Doppelfärbung nach Weiss.

1. 1—2 mal 24 stündige Färbung bei Zimmertemperatur in einer Mischung von Karbolfuchsin (nach Ziehl), 3 Teile. Methylviolettlösung (10 ccm einer konzentr. alkohol. Methylviolettlösung in 100 ccm einer 2 proz. Karbolwasserlösung), 1 Teil. 2. Jodierung mit Lugolscher Lösung 5 Minuten kalt oder Erwärmen über der Flamme bis zum Aufsteigen von Dämpfen. 3. 5 proz. Salpetersäure 1 Minute. 4. 3 proz. Salzsäure 10 Sekunden. 5. Acetonalkohol ($\overline{aa}$). Die Entfärbung geschieht so lange, bis kein Farbstoff mehr abfliesst. Wiederholtes Kontrollieren des Präparates unter dem Mikroskop. 6. Abtrocknen mit Fliesspapier. 7. Nachfärben mit einer 1 proz. Safraninlösung 5—10 Sekunden bezw. Bismarckbraun 1 Minute. 9. Abspülen mit Wasser. 9. Kurzes Trocknen hoch über der Flamme. 10. Zedernöl bezw. Kanadabalsam. 11. Besichtigung des Präparates mit der Oelimmersion.

Antiforminmethode (S. 23). Das Antiformin ist von Uhlenhuth und Xylander in die medizinische Technik 1908/09 eingeführt worden. Es dient zum Nachweis der Tuberkelbazillen, da beide Formen des Tuberkulosevirus antiforminfest sind, d. h. nicht nur morphologisch in einer 15 bis 20 proz. Lösung erhalten bleiben, sondern selbst nach mehrstündiger Einwirkung nicht einmal abgetötet werden[1]), während sämtliche andere Mikroorganismen dadurch zerstört werden. Das Antiformin hat die Fähigkeit, selbst den zähesten Schleim zu lösen, und eignet sich daher vortrefflich zum Nachweis der Tuberkelbazillen im Sputum. Man bringt die zu untersuchende Flüssigkeit in einem Spitzglas mit Antiformin zusammen und sedimentiert die vorhandenen Tuberkelbazillen, durch Absetzenlassen oder schneller noch durch Zentrifugieren. In dem Sediment kann man die Bazillen mit Leichtigkeit färberisch nachweisen. Auf diese

[1]) Das von Hammerl angegebene Homogenisierungsgemisch (1 proz. Ka OH-Lösung in Liq. ammon. caustici conc.) dagegen tötet die Tuberkelbazillen rasch ab. Die Färbbarkeit der im Sputum vorhandenen Tuberkelbazillen wird weder durch das Hammerlsche Gemisch noch durch Antiforminwirkung gestört.

Weise untersucht man nicht nur Speichel, sondern auch Eiter, Exsudate etc.

Zur Anstellung der Antiforminmethode in Schnitten verfährt man folgendermassen: Frische Organstückchen werden auf dem Gefriermikrotom in 30—40 μ dicke Schnitte zerlegt, die sofort in 15—20 pCt., leicht erwärmter Antiforminlösung aufgefangen werden. Hierin lösen sie sich fast momentan auf. Man zentrifugiert, wäscht 1 oder 2 mal mit Aq. dest. nach und streicht das Sediment auf den gereinigten Objektträger, der vorher mit dem für das Paraffinschnittaufkleben gebräuchlichen Eiweissglyzeringemisch dünn bestrichen und zur Koagulation des Eiweisses vorsichtig über der Flamme erwärmt worden ist. Auf diese Weise wird ein festes Anhaften des Sedimentes auf dem Objektträger bewirkt. Färbung dann entweder nach Ziehl oder Gram oder nach der Doppelfärbung Ziehl-Gram.

In ähnlicher Weise kann man auch fixierte Organstücke behandeln. Stückchen, die in 10 proz. Formol, Formol-Müller, Alkohol fixiert wurden, werden nach kurzem Wässern auf dem Gefriermikrotom geschnitten und ebenso weiter behandelt.

In Paraffin eingebettete Organstücke werden durch Toluol herab durch die Alkohole bis in Wasser überführt, dann mit Antiformin behandelt, wobei sich 15—30 μ dicke Schnitte in 10—15 Minuten glatt lösen. Dann wird zentrifugiert und das Zentrifugat nach Gram und Ziehl gefärbt (Merkel).

Zur Reinigung aller dabei gebrauchten Pipetten, Zentrifugenröhrchen, Objektträger bringt man dieselben in ein Gemisch von konzentr. Schwefelsäure und Müllerscher Flüssigkeit. Hierdurch werden die den Glaswänden etwa anhaftenden Tuberkelbazillen in kurzer Zeit vollkommen zerstört und unfärbbar gemacht.

4. Leprabazillen.

Färbung nach Baumgarten. 1. Färbung 6—7 Minuten in verdünnter alkohol. Fuchsinlösung (5 Tropfen konzentr. alkohol. Lösung auf ein Uhrschälchen mit Wasser). 2. Differenzieren mit Salpetersäure-Alkohol (1:10) ¼ Minute lang. 3. Abwaschen in Wasser. 4. Nachfärben mit Methylenblau 20—30 Sekunden. Abwaschen in Wasser, usw. Balsam. — Die Leprabazillen erscheinen als rote Stäbchen auf blauem Grunde. Tuberkelbazillen färben sich mit diesem Verfahren in so kurzer Zeit nicht.

5. Spirochaeta pallida (Schaudinn).

a) Untersuchung im lebenden Zustande bei Dunkelfeldbeleuchtung.

b) Untersuchung im hängenden Tropfen und vitale Färbung nach Mandelbaum. Man bediene sich dazu eines hohlgeschliffenen Objektträgers, der in der Mitte eine uhrschalenförmige Vertiefung besitzt. Der Rand dieser Vertiefung wird mit etwas Vaselin bestrichen. Dann bringt man in die Mitte eines sauberen Deckglases mit einer Platinschlinge einen kleinen Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit, und legt das Deckglas so auf den Objektträger, dass der Tropfen nach unten in den Hohlraum herunterhängt.

Zur vitalen Färbung setzt man dem hängenden Tropfen etwas Löfflers Methylenblau mit einer Platinnadel zu, vermischt und fügt dann eine Öse $^1/_{10}$ Normalnatronlauge hinzu. Untersucht man nun mit der Ölimmersion den Rand des hängenden Tropfens, so sieht man die Spirochaete als zartes, feines, blassblau gefärbtes Gebilde mit engen, unmittelbar aneinander gereihten Windungen, die nach beiden Enden zu immer niedriger werden, und in einer feinen Spitze endigen. Verwechselung des Spirochaete pallida mit anderen Spirochätenarten, namentlich mit der Spirochaete refringens, sind ganz unmöglich, da letztere grob gefärbt dagegen erscheint.

c) Untersuchung im Ausstrich. Das syphilitische Geschwür wird oberflächlich gereinigt und das durch Abschaben, Reizen, Quetschen, oder mittelst Bier schem Saugglas gewonnene „Reiz"- oder „Saugserum" auf ein Deckgläschen aufgestrichen. Fixation des lufttrockenen Präparates in Alkohol absol. 15—20 Minuten oder in Osmium- und Formalindämpfen (s. S. 154). Färbung nach Giemsa (S. 156). Die Spirochaete pallida erscheint zart rot, andere Spirochäten bläulich.

d) Tuschemethode nach Burri. Man vermischt eine Öse von Serum mit einer Öse sterilem Wasser und einer Öse chinesischer Tusche (Tusche nach Burri, in Tuben, bei Grübler), lässt antrocknen und untersucht dann mit Ölimmersion. Die Spirochäten heben sich als helle Figuren in dem dunkeln Gesichtsfeld ab.

e) Methode nach Kalb. Leicht blutiges Reizserum wird lufttrocken durch die Flamme gezogen und gefärbt mit einer klaren Lösung von Eosin B. A. 0,5, Alkohol (70 proz) 50,0, Triazid 30,0, indem man das Präparat 1—2 mal zum Aufdampfen über der Flamme kurz erhitzt (Vorsicht wegen Entzündung des Alkohols!). Darauf Abspülen mit Wasser und Übergiessen mit ver-

dünnter Essigsäure (1 : 10) 2—3 mal. Abtrocknen mit Fliesspapier. Die Spirochäten erscheinen ungefärbt auf rötlichem Untergrund.

f) Schnittpräparate. Silberfärbung nach Levaditi:

1. Fixierung in Formol, Formol-Müller oder Alkohol;
2. 96 proz. Alkohol (24 Stunden);
3. Einlegen in dest. Wasser, bis die Stücke untersinken;
4. Imprägnation im Brutofen mit 1,5 proz. Arg. nitr. Lösung (3 Tage);
5. Kurzes Auswaschen in Wasser;
6. Reduktion bei Zimmertemperatur (48 Stunden) in

Pyrogallussäure	4 g
40 proz. Formalin	5 ccm
Aq. dest.	100 „

In dunkler Flasche vor Licht zu schützen.

7. Auswaschen in Wasser. Gefrierschnitte. Celloidin- oder Paraffineinbettung. Eine Nachfärbung mit polychromem Methylenblau ist möglich (vergl. auch S. 203).

6. Trachomkörperchen

[Chlamydozoen (Prowaczek), Mikrogonokokken (Herzog)].

Deckglaspräparat.

Das Material wird einerseits mit Kapillaren aus dem Konjunktivalherd trachomkranker Patienten entnommen, andererseits wird nach vorheriger Kokainisierung mit dem Deckglasrand, einer ausgeglühten schmalen Platiniridiumlanze oder einem scharfen Kuhntschen Schaber etwas Epithel von der Conj. palpebralis (der beste Fundort ist in der oberen Übergangsfalte bei frischen, nicht behandelten Fällen) abgestreift und in einem kleinen auf dem Objektträger befindlichen Tröpfchen physiologischer Kochsalzlösung verteilt.

Die lufttrockenen Präparate werden in Alkohol fixiert, und mit Giemsas Lösung für die Romanowsky-Färbung (s. S. 156) tingiert. Das Plastin erscheint blau, die Trachomkörner rot gefärbt (Prowaczek und Halberstädter).

Auch das Eosinmethylenblau nach Leishman und das Eosinmethylenblau nach May-Grünwald (beide Lösungen in dem Verhältnisse von $^1/_3$ zu $^2/_3$ dest. Wassers, für die Dauer von 10—15 Minuten) kann man zur Färbung benutzen. Desgleichen Heidenhains Eisenhämatoxylin und das Burrische Tuscheverfahren (Flemming).

Schnittpräparat.

Fixierung einer abgetragenen Gewebsfalte oder eines Follikels in Alkohol absol., Sublimat-Formol, Zenkerscher Lösung. Paraffineinbettung. Schnittdicke 5—10 μ. Färbung nach Giemsa oder Heidenhain 5 Stunden oder nach einer von Herzog modifizierten Methode nach Pick-Jacobsohn. Man braucht folgende Lösungen:

1. Karbolwasser (0,25: 100,0);
2. Gesättigte (rein-) alkohol. Methylenblaulösung (Methylenblau in Alkohol absol. bis zur Sättigung aufgelöst);
3. 1 proz. wässerig-alkoholische (10 proz) Fuchsinlösung.

Das Farbgemisch besteht nun aus:

1. Lösung 15 ccm,
2. Lösung 20 Tropfen,
3. Lösung 10 Tropfen.

Färbungsdauer 6—8 Sekunden. Darauf entfernt man die überschüssige Farblösung vom Objektträger durch vorsichtiges Abtupfen und geht schnell, d. h. nur zum Zwecke der Wasserentziehung, nicht der Differenzierung, durch Alkohol in Xylol über.

Kontrastfärbung nach Lindner: 4 Tropfen Giemsalösung (Original Grübler) auf 10 ccm dest. Wasser und 1 Tropfen 1 proz. Essigsäure. — Färbezeit ca. ¾ Stunden. Diese Färbung ist nur eine Plastinfärbung und dient nur zum Aufsuchen. — Abtrocknen, Einschliessen.

Nachfärbung: (derselben Präparate nach Entfernung des Cedernöls):

a) entweder: 4 Tropfen Giemsa auf 100 ccm Wasser 1½ Stund.; dann kurzes Abspülen mit absolutem Alkohol, Abtrocknen, Einschliessen.

b) oder: 2 Tropfen Giemsa auf 10—15 ccm dest. Wasser 6—16 Stunden (Hornhautepithel zum Studium des Pannus gewöhnlich nur 6 Stunden); dann ebenso kurzes Abspülen mit absol. Alkohol, Trocknen, Einschliessen.

7. Aktinomycespilz.

Untersuchung der zerquetschten Drusen in ungefärbtem Zustand oder Doppelfärbung mit Hämatoxylin-Eosin: Hämatoxylin oder Hämalaun stark vorfärben, mit wässerigem Eosin überfärben; mehrere Stunden in fliessendem Wasser auswaschen,

Alkohol, Balsam. — Zellkerne blau, Protoplasma bläulich, Mycel blau, Kolben, Strahlen und eosinophile Zellgranula rot. — Sehr gute Bilder gibt auch die Färbung nach van Gieson und die Gramsche Methode in der Weigertschen Modifikation (S. 140) mit vorhergehender Lithionkarminfärbung.

8. Molluscum contagiosum.

Färbung nach Giemsa oder Pick-Jacobsohn (Herzog). Zur Darstellung der von Lipschütz gefundenen kleinsten kugelförmigen Gebilde (ohne Fortsätze oder Geisseln) wird der Molluscuminhalt in einer sterilen Reibschale mit einigen Tropfen dest. Wassers fein verrieben, die Emulsion auf Deckgläschen sehr dünn aufgestrichen, mit Alkohol-Äther $\overline{aa}$ fixiert und mit der Geissel-Färbungsmethode nach Löffler (S. 303) deutlich bis leuchtend rot oder mit der Giemsalösung bei 56° (2 Stunden) rosarot tingiert.

9. Acarus folliculorum.

Färbung in Schnitten mit Hämatoxylin-Säurefuchsin oder nach Kraus mit der Methode nach Ziehl-Neelsen (bezw. Gabbet-Ernst). Acarus rot, Gewebe blau.

10. Cysticercusblasen.

Aufschneiden der Blase und Zerquetschen der Skolices unter dem Deckglas.

Literatur.

Axenfeld, Die Bakteriologie in der Augenheilkunde. Jena 1907. — Fick, Derm. Zeitschr. Bd. 9. — Finger, Centralbl. Krankh. Harn- u. Sexualorg. Bd. 5. 1899. — Flemming, Arch. f. Augenheilk. Bd. 66. I. 1910. — Hammerl, Münch. med. Wochenschr. 1909. S. 1955. — Herzog, Arch. f. path. Anat. Bd. 176. 1904. — Arch. f. Ophth. Bd. 74. 1910. — Über die Natur und Herkunft des Trachomerregers. Berlin-Wien 1910. — Deutsche med. Wochenschr. No. 23. 1910. — Homberger, Centralbl. f. Bakt. Bd. 27. — Jadassohn, Verh. d. 4. Derm.-Kongr. 1894. — Kalb, Münch. med. Wochenschr. 1910. No. 26. — Kraus, Arch. f. Derm. Bd. 58. 1901. — Levaditi, Annales de l'Inst. Pasteur. XX. 1906. — Lindner, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 1909. — Lipschütz, Wiener klin. Wochenschr. 1907. No. 9. — Löffler, Deutsche med. Wochenschr. Bd. 32. 1906. — Mandelbaum, Münch. med. Wochenschr. Bd. 54. 1907. — Merkel, Münch. med. Wochenschr. Bd. 57. 1910. — Much, Beitr. z. Klinik d. Tuberk. Bd. VIII. 3. H. 1. — Neisser, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 24. 1897. — Hyg. Rundsch. XIII. — Neisser u. Heymann, Klin. Jahrb. Bd. 7. 1899. — Pes, Arch.

f. Augenheilk. Bd. 45. — Picku. Jacobsohn, Berl. klin. Wochenschr. 1896. No. 36. — Posner, Dermat. Zeitschr. 1904. — Prowaczek u. Halberstädter, Arb. a. d. Kgl. Reichsgesundheitsamt. Bd. 26. 1907. — Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 32. — Scheller, Centralbl. f. Bakt. Bd. 38. 1905. — Uhlenhuth u. Xylander, Arb. a. d. K. Reichsgesundheitsamt. Bd. 32. 1909. — Wehrli, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 1909. II. — Weiss, Münch. med. Wochenschr. 1909. No. 9. — Berl. klin. Wochenschr. 1909. S. 1797. — Wirth, Münch. med. Wochenschr. 1908. No. 32.

Register.

A.

Ablatio retinae. 2.
Abstrichpräparat. 19.
Abtupfungsmethode. 94.
Acetoncelloidinschnelleinbettung. 57.
Acetonparaffineinbettung. 62.
Aceton-Schiessbaumwolle. **72,** 246.
Achsenzylinderfärbung. 103.
— nach Apathy. 103.
— nach Bethe 103.
— nach Bethe und Mönkeberg. 104.
— nach Bielschowsky und Pollack. 106.
— nach Cajal. 105.
— nach Lugaro. 107.
Aderhaut s. Chorioidea.
Acarus folliculorum. 313.
Aktinomyces. 312.
Alaunhämatoxylin. 83.
Alaunkarmin. 87.
Alfieri, Entfärbungsmittel. 206.
Alkannin. 289.
Alkohol absolutus. 40.
Alkohol, $^1/_3$. 22.
Alkohol von steigender Konzentration. 48.
Alsol. 130.
Altlandsches Gemisch. 40.
Altmann, Acetonschiessbaumwolle. **72,** 246.
Altmann, Corrosionsmethode. 180, 285.
Altmannsche Lösung. 37.
Altmann, Oelimprägnation. 292.
Altmann, Zellgranula. 128.
Amakrine Zellen. 227.
Ammonium-Lithiumkarmin. 150.
Amyloid. 146.
Amyloidkörperchen. 147, 244.
Amyloidleber. 20.
Anästhesie. 3, 44.
Anästhol. 65.
Andogsky, Methode. 15.
Angelucci, Verfahren. 33.
Anilinblau. 90.
Anilinfarben. 88.
Anilinöl. 95.
Anilinölparaffineinbettung. 61.
Anilinölxylol. 95.
Anilinwasser. 90, 141.
Anilinwassergentianaviolett. 301.
Antiformin. 23, **308.**
Apathy, Achsenzylinderfärbung. 103.
Arcus senilis. 140, 145, 191, 192.
Area centralis. 214, 239.
Arteria centralis corporis vitrei. 282.
Arteria centralis retinae. 5, 7.
Arteriae ciliares. 6, 7.
Arteria hyaloidea. 7.
Arthropoden. 41.
Asphaltlack. 17.
Assmann, Blutfärbung. 159.
Atrophia bulbi. 2.
Aufhellen der Schnitte. 94.
Aufhellungsflüssigkeiten. 22.
Aufkleben. 69.
— mit Acetonschiessbaumwolle. 72.
— mit Eiweissglyzerin. 71.
— mit Wasser. 71.
Auflösungsflüssigkeiten. 23.
Aufschneiden des frischen Bulbus. 10.
— des gehärteten Bulbus. 49.
Augenflüssigkeit. 22.
Augenlid. **264,** 284, 289.
Augenlid, Erkrankung. 2.
Augenmuskel. 2, 7, 8, 20, **269.**
Augenpigment. 22, **202,** 294.
Aurantia. 90.
Auswaschen. 45.
Autoregeneration d. Sehpurpurs. 232.
Azofarbstoffe. 139.
Azur. 156.

B.

Bänderschneiden. 78.
Bakteriologie. 299.
Bandförmige Hornhauttrübung. 145, 192.
Basalmembran, der Aderhaut. 200.
— der Hornhaut, hintere. 185.
— der Hornhaut, vordere. 171.
Basophile Leukozyten. 158.
Bastian u. Pritschardsche Mischung. 183.
Baumgarten, Leprabazillenfärbung. 309.
Bealesches Karmin. 276.
Becherzellen. 143.
Belichtung der Retina. 210, 229, 237.
Benda, Eisenhämatoxylin. 85.
Benda, Elastinfärbung. 135.
Benda, Fixation in Salpetersäure — Müllerscher Flüssigkeit. 33.
Benda, Neurogliafärbung. 114.
Benzinkolophonium. 109.
Bergamottöl. 95.
Berliner Blau, zur Gefässinjektion. 277.
Best, Karminfärbung. 150.
Bethe, Fixation von Methylenblaupräparaten. 124.
Bethe, Neurofibrillenfärbung. 103.

Bethe u. Mönkeberg, Neurofibrillenfärbung. 104.
Bielschowsky u. Pollack, Neurofibrillenfärbung. 106.
Bindegewebsfärbung. 131.
— nach Mallory. 132.
Bindehaut. 261.
Biondi-Heidenhainsche Färbung. **93,** 230.
Birch-Hirschfeld, Amyloidfärbung. 148.
Birch-Hirschfeldsche Modifikation der Zenkerschen Flüssigkeit. 31.
Birnbacher, Chemische Reaktion der Netzhaut. 230.
Bismarckbraun. 88, 169.
Bleichen s. Entfärbungsmittel.
Bleinachweis in der Hornhaut. 192.
Blepharochalasis. 268.
Blessig, Methode. 15.
Blut. 153.
Blutgefässinjektion. 272.
Boraxferricyankalium nach Weigert. 100.
Boraxkarmin. 87.
Boraxmethylenblau. 305.
Borrel, Tuberkelbazillenfärbung. 307.
Bewegungsvorgänge in der Netzhaut. 229.
Bowmannsche Membran. 171.
Burri, Tuschemethode. 310.
Buzzi, Eleidinfärbung. 143.
Bütschli, Eisenhämatoxylin. 86.

C.

Cajal, doppelte Methode der Nervenfärbung. 117.
— rasche Methode. 115.
Cajal, Neurofibrillenfärbung. 105.
Cajeputöl. 95.
Calberla-Ruge, Einbettungsmasse. **62,** 247.
Campanula. 10.
Canalis Petiti. 253.
Carcinom. 132, 142.
Carnoys Gemisch. 41.
Cataract. 251.
Cedernöl. 95.
Celloidineinbettung. 51.
Celloidin-Paraffineinbettung. 62.
Celloidintrockenmethode. 56.
Celloidinum ricinatum. 264.
Centralkanal. 258.
Cephalopoden. 43.
Chemische Reaktion der Netzhaut. 230.
Chiasma. 244.
Chiewitz, Färbung der Nervenfaserschicht. 224.
Chlor. 43, 204.
Chloralhydrat. 15, 212.
Chlorgoldmethoden, s. Goldmethoden.
Chloroformtod. 4.
Cholestearin. 63, **141.**
Chorioidea. 48, **196,** 292.
Chorioidea, Erkrankungen. 3.
Chorioidealdrüse. 10.
Chromameisensäure. 128, 165.
Chromhämatoxylin. 84.
Chromogen. 111.
Chromsalpetersäure s. Perényische Flüssigkeit.
Chrysoidin. 306.
Ciliararterien. 6, 7.
Cilien. 265.
Ciliarkörper. 9, **198.**
Ciliarmuskel. 198.
Cohnheim, Vergoldung der Hornhaut. 183.
Collacin. 134.
Collagen. 132.
Collastin. 133.
Collodiummethode nach Dimmer. 74.
— nach Obregia. 74.
— nach Weigert. 73.
Conjunctiva. 261.
Conjunctivalerkrankungen. 2.
Conjunctivitis petrificans. 152.
Cornea. 162.
Cornea, Erkrankungen. 2.
Cornea, Form. 6.
Cornea, künstliche Entzündung. 164.
Cornealzellen, fixe. 181.
Cornetsche Pinzette. 70.
Corpora amylacea. 147, 244.
Corpus ciliare s. Ciliarkörper.
Corrosionsmethode. 180, 285.
Cox, Modifikation der Golgischen Methode. 118.
Croupmembran. 2.
Cysticercus. 313.
Czerny, Mazerationsmittel. 167.

D.

Dahlia. 42, 158.
Damarharz. 96.
Darkschewitsch, Methode. 78.
Deckglas. 70.
Deckglas-Klemmpinzette. 96.
Deckglastrockenpräparat. 153.
Depigmentieren. 42, 43, **204.**
Dermoidgeschwulst. 2.
Descemetsche Membran. 185.
Destilliertes Wasser. 81.
Diabetes. 149.
Differenzierungsflüssigkeiten. 22.
Dilatator pupillae. 197.
Dimmer, Colloidinserienschnitte. 74.

Diphtheriebazillus. 306.
Dogiel, Methylenblaumethode. 123.
Doppelmesser. 20.
Dreysel u. Oppler, Eleidinfärbung. 143.
Drittelalkohol. 22.
Drusen. 145, 200.
Dunkelfeldbeleuchtung. 309.
Durchschnitte. 10.

E.

Eau de Javal. 204.
Ebbinghaus, Keratinfärbung. 142.
v. Ebnersche Flüssigkeit. 47.
Echinococcus. 19.
Ectasia bulbi. 2.
Ehrlich, Mastzellenfärbung. 158.
Ehrlich, Neutralrot. 110.
Ehrlich, Säure-Hämatoxylin. 84.
Ehrlich, Triacid. 157.
Ehrlich, Tuberkelbazillenfärbung 307.
Ehrlich, vitale Methylenblaumethode. 121.
Ehrlich-Lazarus, Fixation von Blutpräparaten. 154.
Einbetten. 51.
Einschliessen. 95.
Eisenhämatoxylin
nach Benda. 85.
nach Bütschli. 86.
nach Hansen. 86.
nach Heidenhain. 85.
nach Weigert. 86.
Eisennachweis. 293.
Eismesser. 67.
Eiweissglyzerin. 71.
Elacin. 137.
Elastin-Collagenmethoden. 133.
Elastische Fasern. 134.
— nach Benda. 135.
— nach Fränkel. 135.
— nach Pranter. 137.
— nach Röthig. 137.
— nach Unna-Krzysztalowicz. 137.
— nach Unna-Taenzer. 134.
— nach Weigert. **135,** 174.
Elastische Fasern der Hornhaut. 173.
— der Lederhaut. 193.
Eleïdin. 143.
Elektrischer Strom. 163.
Elektrolyse. 207, 297.
Ellipsoid. 234, 235.
Embolie d. Art. centr. ret. 5.
Endothel der Aderhaut. 199.
— der Hornhaut. 187.
— der Lederhaut. 194.
— der Regenbogenhaut. 197.
Endotheldefekte der Hornhaut. 191.
Entfärbungsmittel für Augenpigmente 204.
Entkalken. 46.
Entwässern des Alkohols. 40.
Entwässern des Präparates. 48.
Entwässern der Schnitte. 94.
Entwickler, photographischer. 190.
Entzündung. 163.
Enukleation. 3, **4,** 5, 6.
Eosin. 90.
Eosin-Methylenblau. 155.
Eosinophile Leukozyten. 157.
Epithel der Bindehaut. 261.
— der Hornhaut. 167.
— der Linse. 249.
Epithelfasern. 264.
Epithelzellgrenzen. 131, 187.
van Ermengem, Reduktor. 204.
Erythrosin. 109.
Essigsäure. **22,** 28.
Etiketten, Aufkleben. 70.
Exner u. Januschke, Entfärbungsmethode. 207.
Exsikkator. 49.

F.

Fächer. 4, 10, 50.
Fädchenkeratitis. 2, 145.
Färben. 80.
Fairchildsches Porzellansieb. 46.
Farbflüssigkeiten. 23.
Farbgemische. 91.
Farrantsche Lösung. 139.
Feld, gelbes u. rotes. 10.
Fett. 137.
— Osmierung. 138.
— Sudanfärbung. 139.
Fettimprägnation, der Hornhaut. 180.
Fettponceau. 139.
Fibrae arcuatae. 173.
Fibrillen, der Hornhaut. 171.
Fibrin. **140.**
— in der Hornhaut. 192.
Fick, Bakterienfärbung. 305.
Fick, Entfärbungsmittel. 206.
Finger u. Jadassohn, Bakterienfärbung. 305.
Fixieren. 24.
Fixierungsmittel, Anwendung. 25.
Flemmingsche Lösung. **37,** 127.
Flügelfell. 191.
Flüssigkeiten, Untersuchung. 19.
Follikel. 2.
Fontanascher Raum. 14.
Foramen centrale. 209.
Form des Auges. 7.
Formaldehydum solutum. 38.
Formalin. 38.
Formol. 38.

Formol — Müllersche Flüssigkeit. 39.
Fovea centralis. 10.
Fränkel, polychromes Methylenblau. 305.
Fränkel, Vierfachfärbung. 135.
Freyscher Glaskitt. 14.
Friedländer, Kapselfärbung. 302.
Frische Präparate. 18.
Frühjahrskatarrh. 2, **263.**
Fuchsin. 89.
Fuchsinessigsäure. 23.
Fuchsinkörper. 129.
Fuchsin S. 90.
Fuscin. 238.

G.

Gabbetsche Methode. 149.
Ganglienzellenfärbung. 107.
— nach Held. 109.
— nach Lenhossék. 109.
— nach Nissl. 107.
— nach Rosin. 110.
Ganglienzellenschicht. 226.
Ganglion ciliare. 271.
Garten, Bewegungsvorgänge in der Netzhaut. 230, 232.
Gefriermikrotom. 21, **65.**
Geisselfärbung. 303.
Gelatineeinschluss. 15.
Gentianaviolett. 89, 147.
Gerotas blaue Masse. 289.
Geschwulst. 2, 51.
Gewebe, frisches. 19.
Giemsa, Färbemethode. 156.
Gieson, van, Färbung. 91.
Gilsonsches Gemisch. 41.
Glaskitt. 14.
Glaskörper. 22, **256.**
Glaslamelle, der Aderhaut. 200.
Glastinte. 70.
Glaswaren. 19.
Glaukom. 2, 51.
Gliom. 19, **239.**
Glykogen. 149.
Glyzerin. 22, **96.**
Glyzerinäther. 133, **159.**
Glyzerineiweiss. 71.
Glyzerin-Gelatine. 14.
Glyzerin-Gelatine-Formol. 17.
Goldmethoden. 182, 189.
— nach Cohnheim. 183.
— nach Heitzmann. 182.
— nach Hénoque-Klein. 189.
— nach Hoyer. 189.
— nach Löwit u. Löwit-Bremer. 183, 270.
— nach Ranvier. 182.
— nach Rollett. 183.
Golgische Methode. **114,** 217, 218, 267.
Gonokokken. 305.
Gonorrhoe. 2.
Gottschausche Klammer. 64.
Gramsche Färbung. 301.
— Löfflersche Modifikation derselben. 304.
— Muchsche Modifikation. 307.
— Weigertsche Modifikation. 140.
Granoplasma, nach Unna. 129.
Granula, nach Altmann. 128.
— nach Nissl. 107.
Granulafärbung, vitale. 23, **168.**
Greisenbogen. 140, 145, 191, 192.
Grenacher, Alaunkarmin. 87. 158.
— Boraxkarmin. 87.
Grenachisches Gemisch. 42.
Griffith, Entfärbungsmethode. 205.
Grünliche Hornhautverfärbung. 192.
Guanin. 237, 238.
Günther, Färbungsmethode. 266.
Guillery, Bleinachweis. 192.
Gullstrand, Untersuchung der Macula lutea. 238.

H.

Hackpräparat. 20.
Hämalaun. 84.
Hämatein. 84.
Hämatoxylin. 82, 152.
— nach Benda. 85.
— nach Böhmer. 83.
— nach Bütschli. 86.
— nach Delafield. 84.
— nach Ehrlich. 84.
— nach Grenacher. 84.
— nach Hansen. 86.
— nach Heidenhain. 84, 85.
— nach Mallory. 113.
— nach Mayer. 84.
— nach Weigert. 86, 100.
Hängender Tropfen. 310.
Hänselsche Flüssigkeit. 187.
Härten. 24.
Halben, Methode. 17.
Hall, Eisenreaktion. 296.
Hammerl, Homogenisierungsgemisch. 308.
Hansen, Eisenhämatoxylin. 86.
Hassalsche Warzen. 189.
Haugsche Lösung. 47.
Haut. 264.
Heidenhain, Eisenhämatoxylinfärbung. 85.
Heidersche Mischung. 69.
Heitzmann, Goldmethode. 182.
Held, Protoplasmafärbung. 130.
Hénoque-Klein, Goldmethode. 189.
Herausnahme d. Auges s. Enukleation.

Hermannsche Lösung. 37.
Hertel, Thioninfärbung. 184.
Herxheimer, Epithelfaserfärbung. 265.
Herxheimer, Fettfärbung. 139.
Herxheimer, Keratohyalinfärbung. 142.
Herzog, Bewegungsvorgänge in der Netzhaut. 229.
Herzog, Entfärbungsmethode. 207.
Herzog, modifizierte Färbungsmethode von Pick-Jacobsohn. 267.
Herzog, Paraffineinbettungsmethode. 61.
v. Hippel, Fixation des Glaskörpers. 257.
Hollundermark. 20.
Hollundermark, künstliches. 20.
Holz. 27.
Homberger, Bakterienfärbung. 306.
Hoppe, Modifikation der Weigertschen Neurogliafärbung. 112.
Horizontalzellen. 227.
Horn. 142.
Hornhaut s. Cornea.
Hoyer, Goldmethode. 189.
Hyaline Entartung. **145**, 191.
Hyaline Kugeln. 262.
Hydrochinon. 119.
Hydrophthalmos. 2, 51.
Hydrops vaginae N. optici. 5.
Hyoscin. 4.
Hyrtl, Trockenmethode. 13.

I.

Indifferente Flüssigkeiten. 21.
Indigkarmin. 168.
Indophenol. 140.
Injektionsmassen. 276.
Innere Körnerschicht. 227.
Innere retikuläre Schicht. 226.
Inouyesche Mischung. 30.
Iridochorioiditis. 2.
Iridocyclitis. 2.
Iris. 196.
Iris, Erkrankungen. 2.
Isolationsflüssigkeiten. 22.
Isotonie. 28.

J.

Jadassohn, Modifikation der Gramschen Färbung. 301.
Jannasch, Quecksilbernachweis. 298.
Januschke u. Exner, Entfärbungsmethode. 207.
Japanische Methode. 71.
Japanische Tusche, zur Injektion. 285.
Javellauge. 204.
Jelinek, Methode. 32.
Jodgrün. 148.
Jodkalium, Nachweis desselben. 253.
Jodkaliumwasserstoffsuperoxyd. 304.
Jodreaktion, auf Amyloid. 146.
— auf Glykogen. 150.
Jodjodkaliumlösung. 141.
Jodschwefelsäurereaktion. 146.
Jodserum. 212.
Johne, Kapselfärbung. 302.
Johnsonsches Gemisch. 35.
Johnson, Methode. 35.

K.

Kaisergelb. 90.
Kaiserlingsches Verfahren. 6.
Kalb, Spirochätenfärbung. 310.
Kalilauge. 23.
Kalium aceticum. 22, 97.
Kaliumbichromat-Eisessig. 30.
Kaliumkarmin. 151.
Kalk. 46, **152.**
Kallius, Fixieren der Golgischen Präparate. 119.
Kammerwasser. 22.
Kanadabalsam. 95.
Kankroidperlen. 142.
Kapselfärbungen. 302.
Karbolfuchsin. 301. 304.
Karbolxylol. 94.
Karmin. 87.
— nach Best. 150.
— nach Grenacher. 87, 158.
— nach Mayer. 88.
— nach Orth. 87.
Karmin, zur Gefässinjektion. 276.
Karunkel. 2.
Karzinom. 132.
Katarakt. 251.
Kautschukkitt. 14.
Keratin. 142.
Keratohyalin. 142.
Kernfärbung. 80, **82.**
Kernteilungsfiguren. 126.
Kitt. 14.
Klebemethoden. 75.
Kleinenbergsche Flüssigkeit. 43.
Klemmleber. 20.
Klemmpinzette. 96.
Kochmethode. 268.
Kochsalzlösung, physiologische. 22.
Kochsalzsäuremischung. 47.
Koch-Weeksscher Bazillus. 301.
Königswasser. 43.
Körbe. 188.
Körnerschicht, äussere. 227.
— innere. 227.
Kohlensäure-Gefrier-Apparat. 65.
Kolloide Entartung. 145.

Kolossow, Darstellung der Zellbrücken. 170.
Kongorot. 143.
Konservierende Flüssigkeit. 14, 22.
Konservierung d. Augapfels. 13.
Kork. 27.
Korrosionsmethode. 180, 285.
Kossa, Silberimprägnation. 153.
Kreislauf. 261.
Kresofuchsin. 137.
Kresylviolett. 89, 306.
Krönigscher Lack. 96.
Kromayer, Epithelfaserfärbung. 265.
Kühlmesser. 68.
Kühne. Verdauungsmethode. 186.
Kultschitzky, Markscheidenfärbung. 101, 228.
Kupferbeize. 99.
Kupferhämatoxylin. 86.
Kupfernachweis. 297.
Kupfervitriol, geglühtes. 40.

L.

Lävulose. 97.
Lamina cribrosa. 244, 291.
Langhans, Jodreaktion. 146, 150.
Langhans, Jodschwefelsäurereaktion. 146.
Lappenmethoden. 73.
Lavendelöl. 95.
Leichenauge. 3.
Leichenfleck. 162.
Leishmans Farbstoff. 156, 263.
Lenhossék, Thioninfärbung. 109.
Lenhossék, Toluidinblaufärbung. 109.
Leprabazillus. 309.
Leukosarkom. 203.
Leukozyten. 157.
Leutert, Kalkfärbung. 152.
Levaditi u. Bertarelli, Silberimprägnation. 203, 311.
Lichtgrün. 91.
Lidhaut. 264.
Lidödem. 268.
Ligamentum pectinatum. 185.
Ligamentum suspensorium. 9.
Lindner, Trachomfärbung. 312.
Linse. 245.
Linse, Erkrankung. 2, 251.
Linsenluxation. 2.
Lipämie. 140.
Lipochrin. 238.
Lipschütz, Gebilde bei Molluscum contagiosum. 313.
Lithion carbonicum, Nachweis desselben. 253.
Lithionkarmin. 87.
Löffler, Geisselfärbung. 303.
Löfflers Methylenblau. 301, 304.
Löffler, Modifikation der Gramschen Färbung. 304.
Lösungstheorie. 80.
Löwit, Vergoldung der Hornhaut. 183.
Löwit-Bremer, Vergoldungsmethode. 270.
Lominski, Vergoldung der Netzhaut. 229.
Lubarsch, Jodreaktion. 146.
Luca Valenti, Geisselfärbung. 303.
Lugaro, Neurofibrillenfärbung. 107.
Lugolsche Lösung. 141.
Lupe. 20.
Luxation der Linse. 2.
Lymphgefässe. 287.
Lymphozyten. 157.

M.

Macula lutea. 10, 32, 37, **238**, 274.
Mallory, Bindegewebsfärbung. 132.
Mallory, Neurogliafärbung. 113.
Mandelbaum, vitale Spirochätenfärbung. 310.
Marchi, Markscheidenfärbung. 102.
Margo limitans retinae. 223.
Markhaltige Nervenfasern. 10, 226.
Markscheidenfärbung. 99.
— nach Kultschitzky. 101.
— nach Marchi. 102.
— nach Pal. 100.
— nach Weigert. 99.
— nach Wolters. 102.
Mastixkollodiumlösung. 69.
Mastzellen. 158, 159.
Material, Beschaffen desselben. 1.
Mayer, P., Entfärbungsmittel. 205.
Mayer, P., Muzikarminfärbung. 144.
Mayer, P., Parakarmin. 88.
May-Grünwald, Farbstoff. 155, 158.
Mazerationsflüssigkeiten. 22, 211, 249.
Mehrfachfärbungen. 91.
Meibomsche Drüsen. 267.
Melanosarkom. 203, 294.
Membrana hyaloidea. 260.
Membrana limitans externa. 228.
Membrana pupillaris. 2, 282.
Mentholvasogen. 142.
Merkel, Färbungsmethode. 266.
Merkelsche Flüssigkeit. 38.
Messerbrücke. 67.
Methylalkohol. 155.
Methylenblau. 89, 168.
— nach Löffler. 301.

Methylenblau, polychromes. 148, **159,** 305.
Methylenblaumethode, vitale. 5, 121.
— Anwendung auf d. Augenlid. 268.
— Anwendung auf d. Augenmuskeln. 270.
— Anwendung auf d. Hornhaut. 180, 184, 188, 190.
— Anwendung auf d. Netzhaut. 221.
— Anwendung auf d. Regenbogenhaut. 202.
Methylgrün. 89, 148.
Methylgrünpyronin. 146.
Methylmixtur, nach Schieffer-decker. 213.
Methylviolett. 147.
Michel, Darstellung der Nervenfaserschicht. 224.
Mikroskop, Dunkelfeld. 309.
—, Polarisations. 268.
—, Stereoskopisches. 284.
Mikroskopische Utensilien. 19.
Mikrotom. 64.
Mikrotommesser. 66.
Minotsches Gemisch. 144.
Miosis. 198.
Möller, Sporenfärbung. 303.
Mönkeberg u. Bethe, Neurofibrillenfärbung. 104.
Molluscum contagiosum. 313.
Molybdänhämatoxylin. 86.
Monesi, elast. Fasern d. Hornhaut. 175.
Morgagnische Kugeln. 145.
Morphium-Hyoscinlösung. 4.
Much, Modifikation der Gramschen Färbung. 307.
Mucin. 144.
Müller, Entfärbungsmethode. 207.
Müllersche Fasern. 217.
Müllersche Flüssigkeit. 22, **28.**
Muir, Kapselfärbung. 302.
Musc. levator palpebrae. 2.
Muzikarminfärbung. 144.
Mydriasis. 198.
Myeloid. 231, 238.

N.

Nachhärten. 48.
Napfmethode. 77.
Naphthalinlinsen. 252.
Natronlauge. 23.
Natronseife. 63.
Negative Versilberung. 176, 177.
Neisser, Färbung der Diphtheriebazillen. 306.
Nelkenöl. 95.
Nervenfaserschicht. 224.
Nerven d. Augenlids. 267.
— Augenmuskeln. 269.
— Augenmuskelsehnen. 270.
— Bindehaut. 261.
— Hornhaut. 189.
— Lederhaut. 193.
— Netzhaut. 224.
— Regenbogenhaut. 201.
Nervus opticus s. Sehnerv.
Netzhaut s. Retina.
Netzhautablösung. 2.
Neumethylenblau. 140.
Neurofibrillenfärbung. 103.
— nach Apathy. 103.
— nach Bethe. 103.
— nach Bethe u. Mönkeberg. 104.
— nach Bielschowsky und Pollack. 106.
— nach Cajal. 105.
— nach Lugaro. 107.
Neurogliafärbung. 110, 217, 242.
— nach Benda. 114.
— nach Mallory. 113.
— nach Weigert. 110.
Neutraler Balsam. 95.
Neutralrot. 110, 168.
Neutrophile Leukozyten. 157.
Nickhaut. 261.
Nicolle, Thioninfärbung von Bakterien. 301, 304.
Nigrosin. 90, 143.
Nilblausulfat. 140.
Nissl, Ganglienzellenfärbung. 40, 41, **107.**
Norris-Shakespeare, Färbungsmethode. 266.
Nuel u. Cornil, Protoplasmastruktur. 187.

O.

Objekttisch, erwärmbarer. 163.
Objektträger. 19, **69.**
Obregia, Celloidinserienschnitte. 74.
Oedem des Lides. 268.
Oelimprägnation. 292.
Oelkugeln, farbige. 211, **235.**
Olt, Aufkleben von Serienschnitten. 75, 79.
Operationskurs, Augen für denselben. 15.
Oppler u. Dreysel, Eleïdinfärbung. 143.
Opticus s. Sehnerv.
Optogramm. 233.
Orange G. 90.
Orcein. **134,** 305.
Orientierung, am Augapfel. 6.
Origanumöl. 95.
Orth, Lithionkarmin. 87.
Orthsche Mischung. 39.
Osmiumsäure. **33,** 138, 201.
Oval, von Merkel. 235.

P.

Pal, Markscheidenfärbung. 100.
Palladiumchlorid. 47, 171, 198.
Pankreasverdauung. 186.
Pannus. 2.
Papille. 10.
Pappenheim, Triacid. 157.
Pappenheim-Unna, Karbol-Methylgrün-Pyroninmischung. 130.
Paraffinbefreiung. 72.
Paraffineinbettung. 58.
Paraffineinbettung, provisorische, nach Herzog. 61.
Paraffinofen. 59.
Paraffinschnelleinbettung. 61.
Parakarmin. 88.
Pasini, Färbung von Keratohyalin. 142.
Pepsin-Salzsäure-Glyzerin. 265.
Perényische Flüssigkeit. 31.
Perlsche Eisenreaktion. 295.
Pes, Hornhautfibrillen. 171.
Peterssche Gebilde. 262.
Petitscher Kanal. 253.
Petrow, Methode. 16.
Pfeiffer, Fuchsinfärbung. 304.
Phenolgelatine. 75.
Phloroglucin. 47.
Phlyctaene. 2.
Photoxylin. 62.
Phthisis bulbi. 2.
Physiolog. Kochsalzlösung. 22.
Pick-Jacobsohn, Färbungsmethode. 301.
— modifiziert von Herzog. 267, 312.
Pigment. 22, **202**, 294.
Pigmentepithel. 237.
Pigmentwanderung. 237.
Pigmentzellen. 194.
Pikrinessigsäure. 43.
Pikrinsäure. 31, **91**.
Pikrinsäurefuchsin. 92.
Pikrinschwefelsäure. 43.
Pikrokarmin. 91.
Pilzbildung. 29.
Pinguecula. 191, 264.
Platinchlorid-Sublimat. 245.
Platten-Modelliermethode. 69.
Plicae centrales. 209.
Pneumokokken. 302.
Polkörnchen. 306.
Pollack u. Bielschowsky, Neurofibrillenfärbung. 106.
Polychromes Methylenblau. 148, **159**, 305.
Polynukleäre Leukozyten. 157.
Positive Versilberung. 176, 182.
Pranter, Elastinfärbung. 137.
Pranter, Orceinfärbung. 305.
Zieler, polychromes Methylenblau. 305.
Priestley-Smith, Methode. 15.
Proc. falciformis. 10.
Protoplasmafärbung. 80, 89.
— nach Held. 130.
Protoplasmastruktur. 128.
Pterygium. 191, 264.
Pupillarmembran. 2, 282.
Pupille, Form. 9.
Purpurin. 152.

Q.

Quecksilbernachweis. 297.
Quetschpräparat. 19.
Quinckesche Eisenreaktion. 296.

R.

Rabl, Chromameisensäure. 128.
Rabl, Sublimat-Platinchlorid. 245.
Ramon y Cajal s. Cajal.
Ranvierscher 1/3 Alkohol. 22.
Ranvier, Vergoldung der Hornhaut. 182.
Ranvier, Versilberung. 187.
Rasiermesser. 20.
v. Rathsche Lösung. 41.
Regenbogenhaut s. Iris.
Reinigung von Objektträgern und Deckgläschen. 70.
Rekonstruktionsmethode. 69.
Resorcinfuchsin
nach Pranter. 137.
nach Weigert. 136.
Retikuläre Schicht, äussere. 227.
innere. 226.
Retina. 20, 21, 33, 35, **208**.
— Belichtung. 210.
— Erkrankungen. 3.
— Färbung. 216.
— Flächenpräparate. 210.
— Flächenschnitte. 215.
— Golgische Methode. 218.
— Lymphbahnen. 292.
— Mazerationsmethoden. 211.
— Methylenblaumethode. 221.
— Querschnitte. 213.
— Schichten der Retina. 223.
Retinitis albuminurica. 137, 152.
Retinitis pigmentosa. 294.
Ringersche Lösung. 230.
Ringwulst. 249.
Röthig, Elastinfärbung. 137.
Rohrzuckerlösung. 30.
Rollett, Hornhautzellen. 183.
Romanowsky, Färbung. 156.
Rosin, Ganglienzellenfärbung. 110.
Rougetsche Methode zur Isolierung der Muskelfasern. 269.
Rubasckkin-Dantschakoff, Aufkleben von Celloidinserienschnitten. 77.

Rubin. 89.
Rubin S. 90.
Rudloff, Färbungsmethode. 228.
Russellsche Fuchsinkörper. 129, 263.

S.

Säurefuchsin. 90.
Säure-Hämatoxylin. 84.
Safranin nach Babes. 89.
— nach Pfitzner. 88.
Saftlückensystem der Hornhaut. 163, 175.
— der Lederhaut. 193.
Sahli, Boraxmethylenblau. 305.
Salpetersäure. 32.
Salpetersäure — Müllersche Flüssigkeit. 33.
Salzsäure. 23.
Salzsäure-Alkohol. 83.
Sarkom. 20, 132, 203.
Schalenmethode. 77.
Scharlach. 139.
Scheibenkanüle. 194.
Schellackinjektion. 286.
Schema zur Herstellung d. mikr. Präparates. 98.
Schichtenpräparation. 11.
Schiefferdecker, Methylmixtur. 213.
Schimmelbildung. 29.
Schleimige Entartung. 143.
Schlemmscher Kanal. 194.
Schneiden von Celloidinpräparaten, 66.
— von Paraffinpräparaten. 67.
Schnittdicke. 66.
Schnittpräparat. 20.
Schnittstrecker. 68.
Schridde, Blutfärbung. 158.
Schridde, Zellgranula. 229.
Schweflige Säure. 207.
Sehnenspindel. 271.
Sehnerv. 2, **241**, 291.
Sehnerv, Eintritt desselben in den Bulbus. 6, 7.
Sehnerv, Erkrankung. 3, 5.
Sehnervenfaserschicht. 224.
Sehnerv, Herausnahme. 4.
Sehpurpur. 1, **232**.
— Fixation desselben. 233.
Seifeneinbettung. 63.
Seilersche Flüssigkeit. 42.
Sektion des Augapfels. 10.
Serienschnitte von Celloidinpräparaten. 73.
— von Paraffinpräparaten. 78.
Siderosis bulbi. 293.
Siebdose. 44.
Siegristsche Befunde. 5.
Signieren der Präparate. 70.
Sihlersche Methode zur Isolierung von Muskelfasern. 269.
Silberimprägnation. 153.
— s. auch Versilberung.
Silberimprägnation nach Levaditi u. Bertarelli. 203.
Silberimprägnation nach Tartuferi. 173.
Sklera. 193.
Smith, Methode. 15.
Spinnenzellen. 243.
Spirochäten. 156, 203, **309**.
Spongioblasten. 217.
Sporenfärbung. 303.
Stabilit. 55.
Stäbchen. 36, **231**.
Stäbchen-Zapfenschicht. 228.
Star. 251.
Starre Lösung. 80.
Stauungspapille. 5.
Steinachsche Siebdose. 46.
Stieda, Eisenreaktion. 295.
Stoelznersche Lösung. 31.
Stückfärbung. 82.
Sublimat. **30**, 128.
Sublimateisessig. 44.
Sublimat-Pikrinsäure. 31.
Sublimat-Platinchlorid. 245.
Sudan III. 139.
Supravitale Granulafärbung. 23.
Suturalfasern. 173.

T.

Tapetum. 10, 200.
Tarsus. 2.
Tartuferi, Silberimprägnation. 173.
Tchemolossow, Methode. 15.
Tellyesniczkysche Lösung. 30.
Tenonscher Raum. 291.
Terpentin, venet. 97.
Thionin, Amyloidfärbung. 148.
— Bakterienfärbung. 301.
— Ganglienzellenfärbung. 109.
— Hornhautzellenfärbung. 184.
— Schleimfärbung. 144.
Thomasche Lösung. 47.
Töten. 3.
Toluidinblaufärbung, nach Lenhossék. 109.
Trachom. 2, 19, 159, 263, **311**.
Trachomdrüsen. 290.
Tränendrüsen. 2, **268**.
Tränensack. 2.
Traubenkörner. 198.
Triacid nach Ehrlich. 157.
— nach Pappenheim. 157.
Trichloressigsäure. 47.
Trockene Celloidinpräparate. 17.
Trocknen des Augapfels. 13.
Trypsinlösung. 186.
Tuberkelbazillen. 149, **307**.
Tuberkulose. 2.

Tumor s. Geschwulst.
Turnbulls Blau. 179.
Tusche, zur Injektion. 285.
— zur Spirochätenfärbung. 310.

U.

Ueberosmiumsäure. 33.
Unna, Collagenmethoden. 132.
— Collastinmethoden. 132.
Unna, Epithelfaserfärbung. 265.
Unna, Glastinte. 70.
Unna, Glyzerin-Aether. 159.
Unna, Granoplasma. 129.
Unna, Jodkaliumwasserstoffsuperoxyd. 304.
Unna, Keratohyalinfärbung. 142.
Unna, Mastzellenfärbung. 159.
Unna, Plasmazellenfärbung. 159.
Unna-Pappenheim, Karbol-Methylgrün-Pyroninmischung. 130.
Unna-Tänzer, Orceinfärbung. 134.
Untersuchung frischer Gewebsstücke. 19.
Untersuchung frischer Präparate. 18.
Utensilien, mikroskopische. 19.
Uvealtraktus. 196.

V.

Valenti, Geisselfärbung. 303.
Vena centralis. 5.
Venetianisches Terpentin. 97.
Verdauungsmethode. 186.
Vergoldung der Augenmuskeln. 269.
— des Glaskörpers. 257.
— der Hornhaut. 182.
— der Netzhaut. 229.
— der Regenbogenhaut. 201.
Verhoeff u. Fischer. Entfärbungsmethode. 206.
Verhornung. 142.
Vermes, Methode. 17.
Versilberung. 131, 187. S. auch Silberimprägnation.
Versilberung der Aderhaut. 199.
— der Hornhaut. 167, 176.
— — negative. 176, 177.
— — positive 176, 182.
— der Netzhaut. 223.
— der Regenbogenhaut. 197.
Vesuvin. 88.
Vitale Granulafärbung. 23. **168.**
Vitale Methylenblaumethode, s. Methylenblau.
Vitale Spirochätenfärbung. 310.
Vortex. 284.

W.

Wachsumrandung. 97.
Wärmeregulator. 59.
Waldeyer, Scheibenkanüle. 194.
Wanderzellen. 162.
Wasserblau. 90.
Wasserblau-Orcein. 133, 265.
Wasser, destilliertes. 81.
Wasserglastinte. 70.
Wasserstoffsuperoxyd. 205.
Weidenreich, Fixation von Blutpräparaten. 154.
Weigert, Celloidinserienschnitte. 73.
Weigert, Eisenhämatoxylin. 86.
Weigert, Elastinfärbung. **135,** 174.
Weigert, Fibrinfärbung. 140.
Weigert, Markscheidenfärbung. **99,** 216.
Weigert, Modifikation der van Gieson-Färbung. 92.
Weigert, Neurogliafärbung. **110,** 217.
Weiss, Doppelfärbung nach Ziehl-Gram. 308.
Welch, Abtupfungsmethode. 94.
Westphal, Mastzellenfärbung. 158.
Witt, Lösungstheorie. 80.
Wladitschensky, Methode. 15.
Wolters, Markscheidenfärbung. 102.
Wolters, Retinafärbung. 218.
Würmer. 43.

X.

Xanthom. 140, 268.
Xerosis conjunctivae. 263.
Xylolkolophonium. 108.

Z.

Zalewski, Eisenreaktion. 295, 296.
Zapfen. 235.
Zellbrücke. 170.
Zellgrenzen s. Epithelzellgrenzen.
Zellgranula. 128.
Zenkersche Flüssigkeit. 31.
Ziehl, Karbolfuchsin. 301.
Ziehl-Gramsche Doppelfärbung. 308.
Ziehl-Neelsen, Tuberkelbazillenfärbung. 307.
Zieler, Blutfärbung. 158.
Zonula Zinnii. 253.
Zuckerlösung. 30.
Zupfpräparat. 20, 22.
Zusatzflüssigkeiten. 21.

Lehrbuch der Nervenkrankheiten

Von

Prof. Dr. H. Oppenheim.

Fünfte, vermehrte und verbesserte Auflage.

Zwei Bände. — Lex. 8°. XVI u. 1641 S. Mit 432 Abbild. im Text und 8 Tafeln.

Brosch. M. 37,—. Gebunden M. 40,—.

Centralbl. f. d. Grenzgebiete d. Medizin u. Chirurgie: . . . Die persönliche Stellungnahme des Autors zu den meisten schwebenden Fragen, die fabelhafte Beherrschung der Literatur machen das Werk zu einem unentbehrlichen Nachschlagebuch des Neurologen.

Ausser vielen Ergänzungen und Aenderungen hat O. dieser Auflage ein Verzeichnis der Literaturquellen beigegeben, eine Neuerung, die von vielen Freunden des ausgezeichneten Werkes mit Freuden begrüsst werden wird. Die Literaturnachweise umfassen viele Tausende von Angaben, nehmen aber trotzdem nur wenig Raum ein.

Wir kennen kein Buch, das in so glücklicher Weise verfasst ist, dass es zugleich als vorzügliches Lehrbuch für den Anfänger und als Handbuch für den Fachmann Verwendung findet.

Deutsche medizinische Wochenschrift: . . . Das Werk gehört zu den Literaturerscheinungen, die allen bekannt und jedem unentbehrlich geworden sind, der ihnen einmal näher getreten ist. Da bedarf es nicht vieler Worte. Der Signatur, die der Verfasser seinem Werk von Anfang an mit auf den Weg gegeben hat, in erster Linie den Forderungen der Praxis Rechnung zu tragen, ist er treu geblieben. Immer wieder erfreuen wir uns an der klaren Schilderung der Krankheitsbilder, den zahlreichen instruktiven Abbildungen, der Gründlichkeit der Diagnose, Prognose und Therapie. Die Schnelligkeit, mit der die Auflagen einander folgen, macht das Lehrbuch zugleich zum Spiegel des jeweiligen Standpunktes der neurologischen Wissenschaft. Als Beispiel sei nur die Fortentwicklung der chirurg. Eingriffe erwähnt, denen der Verfasser ja seine besondere Aufmerksamkeit widmet.

Brain: This well known work has been greatly improved by a large number of additions and is completely up to date. It remains the best general textbook in any language on account of the fulness with which the literature is cited. This edition should find a place on the shelves of all neurologists.

Review of Neurology and Psychiatrie: Professor Oppenheims „Text-Book of Nervous-Diseases" occupies a position in neurological literature which places it beyond the range of ordinary criticism. We have already reviewed it in this Journal, and all that remains for us to do with regard to this fifth edition is to point out that its value has been greatly enhanced by the fact that the author has been prevailed upon to give, concisely and clearly, references to the chief and most recent sources of the literature on each subject, that over 40 new illustrations have been added, and that the contents have been enriched and strengthened by all that is most valuable in the additions which the past four years have made to our knowledge of nervous diseases and their treatment . . . . Prof. O. has gathered his harvest from the field of the world, and has given us the sifted grain. The labour entailed must have been enormous. We congratulate Prof. O. on its achievement . . .

Medizinischer Verlag von S. KARGER in Berlin NW. 6.

Die Komplikationen
der
Stirnhöhlenentzündungen

Beiträge zur Anatomie, Pathologie und Klinik der Stirnhöhlen.

Von

Dr. P. H. GERBER

a. o. Professor und Direktor der kgl. Universitäts-Poliklinik für Hals- und Nasenkranke in Königsberg i. Pr.

Mit zahlreichen Tabellen, 36 Abbildungen im Text und 2 Tafeln.

Preis geb. M. 16,60.

Monatsschrift für Ohrenheilkunde: . . . G.'s Buch ist eine hoch zu schätzende Leistung. Die schwierige Materie ist auf das lichtvollste geordnet. Die durch zahlreiche geistvolle Bemerkungen gewürzte Darstellung ist mustergültig. Wie die Otologie erst dadurch den Kontakt mit der allgemeinen Medizin erhalten hat, dass ihr durch die Werke von *Mac Ewen*, *Hessler* und *Körner* die Kenntnis von den Komplikationen der Mittelohreiterungen vermittelt wurde, so wird auch die Rhinologie erst dann die ihr gebührende Würdigung finden, wenn die nasalen Nebenhöhleneiterungen in ihren Komplikationen, d. h. in ihrer Gefährlichkeit erkannt sein werden. Diesem dringenden Postulat in bezug auf die Stirnhöhlenaffektionen Abhülfe geschafft zu haben, ist das Verdienst des *Gerber*schen Buches, das somit in der Geschichte der Nasenheilkunde einen ebensolchen Markstein bedeutet, wie ihn die obengenannten drei ohrenärztlichen Arbeiten seinerzeit für die Otologie gebildet haben.

Zeitschr. f. Laryngologie: . . . Alles in allem zeichnet die *Gerber*sche Monographie grosse Gründlichkeit aus, die einschlägige Literatur ist einer sehr gewissenhaften Kritik unterzogen, die Schlüsse, die Verf. aus seiner Arbeit zieht, besonders seine Indikationsstellung, verdienen volle Anerkennung und Nachahmung. — — — Jedenfalls kann das Studium des Buches nicht warm genug empfohlen werden.

Int. Zentralbl. f. Laryngologie: . . . denn ich rechne dieses Buch zu den besten, welche uns die letzten Jahre gebracht haben: ein Werk, das trotz seiner minutiösen Gründlichkeit in der Anordnung der Materie so klar und übersichtlich, in der Diktion so gewandt und formvollendet ist, bedeutet einen hohen Gewinn für unsere Disziplin.

Ueber das Syphilom des Ciliarkörpers. Von Prof. Dr. Th. von Ewetzky, Dorpat. 3,50 M.

Trachomtherapie in der verseuchtesten Gegend Ungarns. Von Dr. M. Falta in Szeged; redigiert von Dr. M. Ohlemann. Mit 7 Abbild. 2,— M.

Zur Kroenleinschen Operation. Von Prof. Dr. J. Helbron in Berlin. Mit 2 Tafeln. 3,50 M.

Untersuchungen über die **Pigmentierung der Haut.** Von Priv.-Doz. Dr. Camill Hirsch in Prag. Mit 9 Textabbild. u. 2 Tafeln. 3,— M.

Klinische und anatomische Studien an **Augengeschwülsten.** Von Dr. G. Ischreyt in Libau. Mit 18 Abbildungen. 4,— M.

Pemphigus des Auges. Von Dr. E. Pergens in Brüssel. 2,— M.

Medizinischer Verlag von S. KARGER in Berlin NW. 6.

Medizinischer Verlag von S. KARGER in Berlin NW. 6.

Das System
der
Skiaskopie und Ophthalmoskopie

vom Standpunkt der physischen, physiologischen und geometrischen Optik

Von

Dr. Hugo Wolff
in Berlin.

Mit 15 Textfiguren und 10 Tafeln. — **Preis M. 12.—.**

Wiener klin. Wochenschrift: Der Verfasser, der sich durch seine Arbeiten über Skiaskopie und sein elektrisches Skiaskopophthalmometer längst einen Namen unter den Fachgenossen geschaffen hat, legt uns in diesem Buche die Grundzüge seiner Theorie der Skiaskopie in übersichtlicher Weise vor. Aber nicht bloss auf die Skiaskopie, sondern auch auf die Ophthalmoskopie im aufrechten und umgekehrten Bilde dehnt sich die Betrachtung aus, denn es ergibt sich, dass zwischen diesen Methoden nicht so wesentliche Unterschiede bestehen, wie man allgemein annimmt, vielmehr lassen sich alle drei als Spezialfälle in der Anordnung der einzelnen Glieder jenes komplizierten optischen Systems darstellen, das aus dem Auge des Untersuchten und des Beobachters mit dem Augenspiegel zwischen beiden besteht. (Salzmann.)

Von demselben Verfasser ist ferner erschienen:

Ueber die Skiaskopietheorie,

skiaskopische Refraktionsbestimmung und über mein elektrisches Skiaskopophthalmometer

nebst **Bemerkungen über die Akkommodationslinie und die sphärische Aberration des Auges.**

Mit 12 Abbildungen im Text, 2 Tafeln und 1 Tabelle. Preis **M. 3,—.**

Wochenschr. f. Therapie und Hyg. d. Auges: Von allen Autoren, die sich theoretisch mit der Skiaskopietheorie beschäftigt haben, scheint Verf. auf die einfachste und plausibelste Theorie gekommen zu sein; zum mindesten ist die Darstellung — auch vermöge der praktischen Anordnung und der klaren Zeichnungen — eine sehr überzeugende.

Pathologie der Cilien.

Von

Dr. Hans Herzog,
Privatdozent an der Universität und Laboratoriumsassistent der Kgl. I. Universitäts-Augenklinik in Berlin.

Mit 5 Abbildungen im Text und 5 Tafeln. Lex. 8°. Brosch. M. 4,—.

Die Bedeutung der Augenhygiene für den Staat

mit besonderer Berücksichtigung der Wehrfrage.

Von

Dr. Franz Heilborn
Augenarzt in Breslau.

Gr. 8°. Mit 4 Abbildungen im Text. Brosch. M. 4.—.

Medizinischer Verlag von S. KARGER in Berlin NW. 6.

Ophthalmoskopische Tafel

von

Dr. MAX PERLES,

Augenarzt in Berlin.

Preis im Rahmen mit matter Glasscheibe M. 25,—.

Die „Ophthalmoskopische Tafel" besteht aus einer farbigen, von einer matten Glasplatte bedeckten Wiedergabe des normalen menschlichen Augenhintergrundes. Die Zeichnung ist nach der Natur entworfen und stellt das aufrechte Bild des mässig pigmentierten Augenhintergrundes von einem 20jährigen Emmetropen dar. Die Linear-Vergrösserung gegenüber den anatomischen Verhältnissen ist etwa 28fach, also die doppelte Vergrösserung des aufrechten Bildes beim Emmetropen. Durch beliebige Umdrehung lässt sich die Tafel als Augengrund-Schema beider Augen für das aufrechte und umgekehrte Bild verwenden.

Die Tafel soll in erster Linie dem Unterricht dienen, es sollen auf der Glasplatte die pathologischen Befunde eingezeichnet werden. Hierzu werden von Kreidestiften schwarz, weiss, rot, gelb, grau, oliv und eventl. noch rotbraun für alle Fälle genügen. Auch der im Zeichnen Ungeübte wird durch einige Striche mit der geeigneten Farbe Blutungen, helle und Pigmentherde, Netzhaut-Abhebung, Stauungs-Papille etc. den Zuhörern hinreichend zur Darstellung bringen können, oft sogar naturgetreuer, als es ein herumgereichtes Atlasbild vermag, das doch selten auf den Einzelfall passt.

Auch zur Uebung im selbständigen Zeichnen von Augenspiegelbefunden, zu Examens- und Demonstrations-Zwecken in wissenschaftlichen Gesellschaften ist die Tafel verwendbar, sowie zur sukzessiven Eintragung besonders interessanter, langsam entstehender Veränderungen.

Die Funktionsprüfung des Auges

und ihre Verwertung für die allgemeine Diagnostik.

Für Ärzte und Studierende.

Von **Prof. Dr. O. Schwarz**

in Leipzig.

Mit 81 Figuren im Text und einer Tafel.

Gr.-8°, XIV und 322 Seiten. Brosch. M. 7.—, geb. M. 8.—.

Schmidts Jahrbücher: Das schwierige Werk ist ihm ausgezeichnet gelungen. Die ganze Funktionsprüfung ist sozusagen vom Lichtstrahl an logisch entwickelt, der gesamte Stoff bei all seiner Fülle und Mannigfaltigkeit meisterhaft anschaulich und übersichtlich aufgebaut. Neben einer erschöpfenden sachlichen Berücksichtigung der vorhandenen Literatur treten allenthalben selbständige Gedanken hervor.

Von demselben Verfasser erschien im gleichen Verlage:

Die Bedeutung der Augenstörungen

für die Diagnostik der

Hirn- und Rückenmarks-Krankheiten.

Für Aerzte, besonders Neurologen und Ophthalmologen.

Gr. 8°. Brosch. M. 2,50.

28.D.328.
Die mikroskopischen Untersuchun1911
Countway Library BER1028
3 2044 045 943 925

28.D.328.
Die mikroskopischen Untersuchun1911
Countway Library BER1028
3 2044 045 943 925